

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE FARMACIA**

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA  
CENTRO MIXTO CSIC-UCM  
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA I**

**“EVALUACIÓN NUTRICIONAL Y DEL METABOLISMO  
LIPOPROTEICO EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS  
CONSUMIENDO UNA MEZCLA DE ACEITE DE OLIVA Y  
GIRASOL, ACEITE DE OLIVA VIRGEN “EXTRA” Y ACEITE DE  
GIRASOL ALTO OLEICO”**

**MEMORIA DE TESIS DOCTORAL**

**SONIA RODRÍGUEZ GIL**

**MADRID, JULIO DE 2000**

*A mi madre y,  
Marisa mi hermana.*

**Esta Memoria de Tesis Doctoral ha sido financiada en su totalidad por  
el proyecto ALI 92-0289-CO2-01 de la Comisión Interministerial de  
Ciencia y Tecnología (CICYT)**

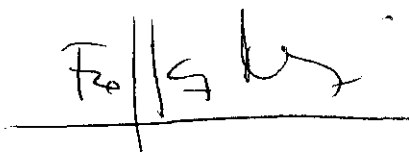
**“EVALUACIÓN NUTRICIONAL Y DEL METABOLISMO  
LIPOPROTEICO EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS  
CONSUMIENDO UNA MEZCLA DE ACEITE DE OLIVA Y  
GIRASOL, ACEITE DE OLIVA VIRGEN “EXTRA” Y ACEITE DE  
GIRASOL ALTO OLEICO”**

Memoria de Tesis Doctoral presentada por **Sonia Rodríguez Gil**, aspirante al grado de Doctora en Farmacia.


**DIRECTORES :**



**Fdo: CARMEN CUESTA LORENZO**  
Colaboradora científica del CSIC.  
Intituto de Nutrición y Bromatología  
(Centro Mixto CSIC-UCM)

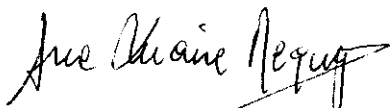


**Fdo: FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ MUNIZ**  
Profesor Titular del Departamento de Nutrición  
y Bromatología I (Nutrición)

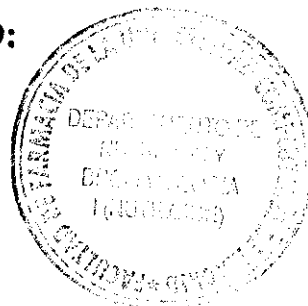


**Fdo: SOFÍA RÓDENAS DE LA ROCHA**  
Profesora Titular de la Sección Departamental  
de Química Analítica

**V'Bª DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO:**



**Fdo.: ANA Mª REQUEJO MARCOS**  
Profesora Titular del Departamento de  
Nutrición y Bromatología I (Nutrición)



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**



**CARMEN CUESTA LORENZO, Colaboradora científica del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto de Nutrición y Bromatología. Centro Mixto CSIC-UCM**

**FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ-MUNIZ, Profesor titular del Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid**

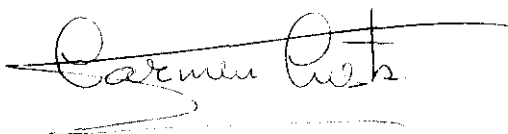
**SOFÍA RÓDENAS DE LA ROCHA, Profesora titular de la Sección Departamental de Química Analítica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid**

**CERTIFICAN:** que la presente Memoria de Tesis Doctoral titulada:

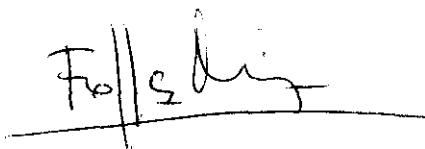
**“EVALUACIÓN NUTRICIONAL Y DEL METABOLISMO  
LIPOPROTEICO EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS  
CONSUMIENDO UNA MEZCLA DE ACEITE DE OLIVA Y  
GIRASOL, ACEITE DE OLIVA VIRGEN “EXTRA” Y ACEITE DE  
GIRASOL ALTO OLEICO”**

ha sido realizada en el Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición) y en el Instituto de Nutrición y Bromatología (Centro Mixto CSIC-UCM) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

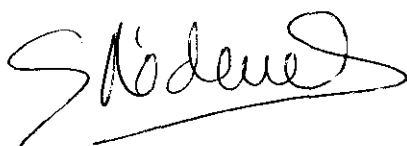
Y para que así conste y surta los efectos oportunos, se expide el presente certificado en Madrid a 13 de Julio de 2000.



**Fdo: CARMEN CUESTA LORENZO**



**Fdo: FRANCISCO JOSÉ SÁNCHEZ MUNIZ**



**Fdo: SOFÍA RODENAS DE LA ROCHA**

## *Agradecimientos*

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas y entidades, sin cuya colaboración no habría sido posible la realización de esta Memoria de Tesis Doctoral.

- A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) por la financiación del proyecto ALI 92-0289-CO2-01, del que forma parte este trabajo.

- A las monjas del convento de clausura de las Carmelitas Descalzas de Lerma (Burgos) por haberse prestado voluntarias desinteresadamente para la realización de este estudio.

- A mis directores de Tesis, la Dra. Carmen Cuesta, Dr. Paco Sánchez Muniz y Dra. Sofía Ródenas por su continuo apoyo y asesoramiento en la elaboración de esta Memoria.

- A las empresas AGRA, S.A. y KOIPE, S.A. por la cesión de los aceites utilizados en esta investigación.

- A Dña Laura Barrios, jefe del Departamento de Estadística del Centro Técnico de Informática CTI-CSIC, por su asesoramiento y realización de algunos aspectos del estudio estadístico.

- A la Escuela de Especialización Profesional de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia (UCM), por su colaboración en las medidas de los parámetros hematológicos.

- Al Dr. Melchor Ruíz, médico de las religiosas, Teresa Ruíz, farmacéutica de Lerma y Ana Sánchez, por haber hecho posible la realización de este estudio.

- Al Dr. Muggli y a los Laboratorios Hoffmann La Roche por las determinaciones realizadas sobre vitaminas.

- Al Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición) de la Facultad de Farmacia y en concreto a su Directora la Dra Ana M<sup>a</sup> Requejo y a mis compañeros y amigos Ovidio, M<sup>a</sup> Cruz, Ruth y Antonio.

- A Sara y Paco por su afecto y atenciones durante muchos fines de semana de intenso trabajo.

- A Iván y Oscar por mantener desinteresadamente el soporte informático que en muchas ocasiones ofreció desagradables sorpresas.

- A mi madre por su cariño, mimo y paciencia soportando a una hija con constantes y siempre sorprendentes cambios de humor.

- A mi hermana, que al igual que en toda mi vida, ha estado desde el principio ayudándome y participando activamente en esta Tesis que también es suya, aportando ideas y entusiasmo, resolviendo problemas y haciéndome reír.

***ÍNDICES***

<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS.....</b>	<b>1</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>9</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>11</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>12</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>19</b>
<b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1. <u>METABOLISMO LIPÍDICO.....</u></b>	<b>25</b>
<b>1.1.1 <u>Transporte de los lípidos exógenos hasta el hígado .....</u></b>	<b>31</b>
1.1.1.1. <i>Absorción de los lípidos de la dieta.....</i>	31
1.1.1.2. <i>Síntesis de los quilomicrones.....</i>	32
1.1.1.3. <i>Catabolismo de los quilomicrones.....</i>	33
<b>1.1.2. <u>Síntesis endógena de lípidos y su transporte a los tejidos periféricos.....</u></b>	<b>34</b>
1.1.2.1. <i>Vehiculización de los lípidos endógenos en VLDL.....</i>	35
1.1.2.2. <i>Metabolismo de las LDL.....</i>	37
<b>1.1.3. <u>Transporte reverso de lípidos.....</u></b>	<b>40</b>
<b>1.1.4. <u>Lipoproteínas(a): bioquímica, metabolismo y concentraciones plasmáticas.....</u></b>	<b>45</b>
1.1.4.1. <i>Bioquímica de la Lp(a).....</i>	46
1.1.4.2. <i>Metabolismo de las Lp(a).....</i>	48
1.1.4.3. <i>Concentraciones plasmáticas de Lp(a).....</i>	49
<b>1.2. <u>ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....</u></b>	<b>51</b>
1.2.1. <b><u>Formación de la placa de ateroma .....</u></b>	<b>51</b>
1.2.2. <b><u>Papel del endotelio en la aterosclerosis.....</u></b>	<b>55</b>
1.2.3. <b><u>Peroxidación de la LDL.....</u></b>	<b>59</b>

1.2.3.1. <i>Mecanismos de protección de la LDL frente a la peroxidación</i> .....	63
1.2.3.2. <i>Importancia de la LDL oxidada en la aterogénesis</i> .....	64
1.2.3.2.1. <i>LDL oxidada y respuestas vasculares</i> .....	68
1.2.3.2.2. <i>Implicación de los peróxidos lipídicos en el desarrollo de la aterosclerosis</i> .....	69
1.2.4. <i>Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular</i> .....	70
1.2.4.1. <i>No modificables</i> .....	71
1.2.4.1.1. <i>Edad</i> .....	71
1.2.4.1.2. <i>Sexo</i> .....	72
1.2.4.1.3. <i>Historia familiar de enfermedad cardiovascular</i> .....	76
1.2.4.1.4. <i>Diabetes mellitus</i> .....	77
1.2.4.1.5. <i>Algunas dislipemias</i> .....	82
1.2.4.1.6. <i>Personalidad</i> .....	90
1.2.4.2. <i>Modificables</i> .....	91
1.2.4.2.1. <i>Tabaquismo</i> .....	91
1.2.4.2.2. <i>Hipertensión arterial</i> .....	94
1.2.4.2.3. <i>Actividad física</i> .....	95
1.2.4.2.4. <i>Obesidad</i> .....	97
1.2.4.2.5. <i>Trombogénesis</i> .....	99
1.2.4.3. <i>Lp(a): trombogénesis y aterogénesis</i> .....	101
1.2.4.3.1. <i>Efectos de la Lp(a) en la fibrinólisis</i> .....	103
1.2.4.3.1.1. <i>Inhibición de la formación de plasmina por la Lp(a)</i> .....	103
1.2.4.3.1.2. <i>Modificación de la síntesis celular</i> .....	104
1.2.4.3.2. <i>Efectos aterogénicos de la Lp(a)</i> .....	105
1.2.4.3.3. <i>Polimorfismo genético y heterogeneidad de la Lp(a)</i> .....	106

<b>1.3. <u>LA DIETA EN LAS PERSONAS DE EDAD AVANZADA</u></b> .....	107
<b>1.3.1. <u>Situación nutricional en las personas mayores</u></b> .....	107
<b>1.3.2. <u>Dieta recomendada en las personas de edad avanzada</u></b> .....	108
1.3.2.1. <i>Distribución de las comidas</i> .....	109
1.3.2.2. <i>Regímenes especiales</i> .....	110
<b>1.3.3. <u>Consumos recomendados de alimentos</u></b> .....	110
1.3.3.1. <i>Grupo I: Cereales y derivados</i> .....	112
1.3.3.2. <i>Grupo II: Productos lácteos</i> .....	113
1.3.3.3. <i>Grupo III: Huevos</i> .....	114
1.3.3.4. <i>Grupo IV: Azúcares</i> .....	115
1.3.3.5. <i>Grupo V: Grasas y aceites</i> .....	116
1.3.3.6. <i>Grupo VI: Verduras y hortalizas</i> .....	117
1.3.3.7. <i>Grupo VII: Legumbres</i> .....	117
1.3.3.8. <i>Grupo VIII: Frutas</i> .....	118
1.3.3.9. <i>Grupo IX: Carne y derivados</i> .....	119
1.3.3.10. <i>Grupo X: Pescados, moluscos y crustaceos</i> .....	120
1.3.3.11. <i>Grupo XI: Bebidas</i> .....	121
1.3.3.12. <i>Grupo XII: Varios</i> .....	121
<b>1.3.4. <u>Necesidades de energía y nutrientes</u></b> .....	122
1.3.4.1. <i>Necesidades de energía</i> .....	122
1.3.4.2. <i>Necesidades de macronutrientes</i> .....	125
1.3.4.2.1. <i><u>Necesidades de proteínas</u></i> .....	125
1.3.4.2.2. <i><u>Necesidades de hidratos de carbono</u></i> .....	128
1.3.4.2.3. <i><u>Necesidades de lípidos</u></i> .....	130

1.3.4.3. <i>Necesidades de fibra</i> .....	135
1.3.4.4. <i>Necesidades de vitaminas</i> .....	138
1.3.4.4.1. <i>Vitaminas liposolubles</i> .....	139
1.3.4.4.2. <i>Vitaminas hidrosolubles</i> .....	141
1.3.4.5. <i>Necesidades de minerales</i> .....	146
1.4. <b><u>GRASAS CULINARIAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO</u></b> .....	151
1.4.1. <b><u>Aceite de girasol</u></b> .....	153
1.4.2. <b><u>Aceite de oliva</u></b> .....	154
1.4.3. <b><u>Aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico</u></b> .....	158
1.5. <b><u>DIETA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR</u></b> .....	160
1.5.1. <b><u>Influencia de la composición lipídica de la dieta sobre las lipoproteínas</u></b> .....	161
1.5.1.1. <i>Colesterol dietario</i> .....	163
1.5.1.2. <i>Ácidos grasos dietarios</i> .....	165
1.5.1.2.1. <b><u>Ácidos grasos saturados</u></b> .....	171
1.5.1.2.2. <b><u>Ácidos grasos monoinsaturados</u></b> .....	178
1.5.1.2.3. <b><u>Ácidos grasos poliinsaturados n-6</u></b> .....	186
1.5.1.2.4. <b><u>Ácidos grasos poliinsaturados n-3</u></b> .....	190
1.5.1.2.5. <b><u>Ácidos grasos trans</u></b> .....	192
1.5.2. <b><u>Influencia de las vitaminas antioxidantes de la dieta sobre las lipoproteínas y el riesgo cardiovascular</u></b> .....	193
1.5.3. <b><u>Influencia del resto de vitaminas dietarias sobre el riesgo cardiovascular</u></b> .....	200
1.5.4. <b><u>Influencia de otros componentes dietarios no esenciales sobre el riesgo cardiovascular</u></b> .....	203
1.5.4.1. <i>Compuestos fenólicos</i> .....	203
1.5.4.2. <i>Esteroles</i> .....	206

<b>2. OBJETIVOS E INTERÉS DEL TRABAJO.....</b>	<b>209</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>211</b>
<b>3.1. TOMA DE MUESTRA.....</b>	<b>211</b>
3.1.1. <u>Elección del centro</u> .....	211
3.1.2. <u>Elección de la muestra</u> .....	211
<b>3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>212</b>
<b>3.3. ESTUDIO DE LA DIETA.....</b>	<b>213</b>
3.3.1. <u>Recogida de datos</u> .....	213
3.3.2. <u>Descripción de la dieta</u> .....	214
3.3.2.1. <i>Menú tipo</i> .....	214
3.3.2.2. <i>Frecuencia y cantidad de alimentos</i> .....	215
3.3.2.3. <i>Aceites utilizados en el estudio</i> .....	216
3.3.2.4. <i>Métodos culinarios</i> .....	217
<b>3.4. MÉTODOS.....</b>	<b>217</b>
3.4.1. <u>Medidas antropométricas</u> .....	217
3.4.2. <u>Cálculo del gasto energético</u> .....	217
3.4.2.1. <i>Gasto metabólico basal (GMB)</i> .....	218
3.4.2.2. <i>Gasto por actividad física (GAF)</i> .....	219
3.4.2.3. <i>Efecto termogénico de los alimentos</i> .....	220
3.4.3. <u>Recogida y tratamiento de muestras</u> .....	220
3.4.4. <u>Determinaciones analíticas</u> .....	220
3.4.4.1. <i>Determinación de ácidos grasos de los aceites</i> .....	220
3.4.4.2. <i>Determinación de componentes minoritarios de los aceites</i> .....	223
3.4.4.2.1. <u>Determinación de polifenoles</u> .....	223



3.4.4.2.2. <u>Determinación de la composición y el contenido de esteroides</u> .....	223
3.4.4.2.3. <u>Determinación de tocoferoles</u> .....	228
3.4.4.3. <u>Separación y cuantificación de lipoproteínas</u> .....	230
3.4.4.4. <u>Determinación de colesterol total</u> .....	232
3.4.4.5. <u>Determinación de triglicéridos</u> .....	233
3.4.4.6. <u>Determinación de fosfolípidos</u> .....	234
3.4.4.7. <u>Determinación de proteínas en cada fracción lipoproteica</u> .....	235
3.4.4.8. <u>Determinación de apolipoproteína AI</u> .....	235
3.4.4.9. <u>Determinación de apolipoproteína B</u> .....	236
3.4.4.10. <u>Determinación de apolipoproteína AII</u> .....	236
3.4.4.11. <u>Determinación de lípidos totales</u> .....	238
3.4.4.12. <u>Determinación de la masa total de las lipoproteínas</u> .....	238
3.4.4.13. <u>Determinación de peroxidación lipídica en suero y en LDL</u> .....	238
3.4.4.14. <u>Determinación de vitaminas</u> .....	239
3.4.4.14.1. <u>Determinación de retinol, <math>\alpha</math>-tocoferol y <math>\gamma</math>-tocoferol</u> .....	239
3.4.4.14.2. <u>Determinación de <math>\alpha</math>-carotenos, <math>\beta</math>-carotenos, criptoxantina y licopenos</u> .....	242
3.4.4.14.3. <u>Determinación de ácido ascórbico</u> .....	243
3.5. <u>CONTROL DE CALIDAD</u> .....	244
3.6. <u>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</u> .....	245
4. <u>EXPOSICIÓN DE RESULTADOS</u> .....	247
5. <u>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</u> .....	313
5.1. <u>DIETA</u> .....	314
5.1.1. <u>Ingesta de energía</u> .....	314

<b>5.1.2. <u>Ingesta de proteínas</u></b> .....	315
<b>5.1.3. <u>Ingesta de lípidos</u></b> .....	317
<b>5.1.3.1. <i>Consumo absoluto y relativo</i></b> .....	318
<b>5.1.3.2. <i>Calidad de la grasa consumida</i></b> .....	319
<b>5.1.3.3. <i>Consumo de los ácidos grasos más importantes</i></b> .....	323
<b>5.1.3.4. <i>Consumo de colesterol</i></b> .....	327
<b>5.1.4. <u>Ingesta de hidratos de carbono</u></b> .....	329
<b>5.1.5. <u>Ingesta de fibra</u></b> .....	330
<b>5.1.6. <u>Ingesta de vitaminas</u></b> .....	332
<b>5.1.6.1. <i>Vitaminas liposolubles</i></b> .....	332
<b>5.1.6.2. <i>Vitaminas hidrosolubles</i></b> .....	335
<b>5.1.7. <u>Ingesta de minerales</u></b> .....	341
<b>5.2. <u>LIPEMIA Y LIPOPROTEINEMIA DURANTE EL PERIODO BASAL</u></b> .....	346
<b>5.2.1. <u>Diferencias en los parámetros lipídicos y lipoproteicos de mujeres normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas durante el periodo Basal</u></b> .....	353
<b>5.3. <u>PEROXIDACIÓN LIPÍDICA Y LIPOPROTEICA DURANTE EL PERIODO BASAL</u></b> .....	357
<b>5.4. <u>CAMBIOS EN LA DIETA, LÍPIDOS SÉRICOS, LIPOPROTEINAS, GRADO DE PEROXIDACIÓN SÉRICA Y LIPOPROTEICA PRODUCIDOS POR LA SUSTITUCIÓN DIETA BASAL-DIETA ELABORADA CON ACEITE DE OLIVA VIRGEN “EXTRA”</u></b> .....	360
<b>5.4.1. <u>Modificaciones en los componentes de la dieta consecuentes al cambio dieta Basal-dieta elaborada con aceite de oliva virgen “extra”</u></b> .....	360
<b>5.4.2. <u>Cambios lipídicos y lipoproteicos producidos por la sustitución dieta Basal-dieta elaborada con aceite de oliva virgen “extra”</u></b> .....	362
<b>5.4.2.1. <i>Modificaciones en la composición de las lipoproteínas por el cambio dietético Basal-oliva virgen “extra”</i></b> .....	371

<b><u>5.4.3. Modificación en la peroxidación sérica y lipoproteica como consecuencia del intercambio dietario Basal-oliva virgen "extra". Niveles plasmáticos de vitaminas durante el periodo oliva virgen "extra"</u></b> .....	374
<b><u>5.4.4. Diferencias en los parámetros lipídicos, lipoproteicos, concentraciones plasmáticas de vitaminas, peroxidación sérica y lipoproteica, de mujeres normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas tras el periodo oliva virgen "extra"</u></b> .....	378
<b><u>5.5. DIFERENCIAS EN LA RESPUESTA AL CAMBIO DIETÉTICO BASAL-OLIVA VIRGEN "EXTRA" DE LAS MUJERES NORMOCOLESTEROLÉMICAS E HIPERCOLESTEROLÉMICAS</u></b> .....	382
<b><u>5.6. CAMBIOS EN LA DIETA, LÍPIDOS SÉRICOS, LIPOPROTEINAS, GRADO DE PEROXIDACIÓN SÉRICA Y LIPOPROTEICA PRODUCIDOS POR LA SUSTITUCIÓN DIETA ELABORADA CON ACEITE DE OLIVA VIRGEN "EXTRA"- DIETA ELABORADA CON ACEITE DE GIRASOL ALTO OLEICO</u></b> .....	386
<b><u>5.6.1. Modificaciones en los componentes de la dieta consecuentes al cambio dieta elaborada con aceite de oliva virgen "extra"- dieta elaborada con aceite de girasol alto oleico</u></b> .....	386
<b><u>5.6.2. Cambios lipídicos y lipoproteicos producidos por el intercambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico</u></b> .....	387
<b><u>5.6.2.1. Modificaciones en la composición de las lipoproteínas por el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico</u></b> .....	393
<b><u>5.6.3. Modificaciones en la peroxidación sérica y lipoproteica, y en las concentraciones plasmáticas de vitaminas consecuentes a la sustitución dietética oliva virgen "extra"-girasol alto oleico</u></b> .....	396
<b><u>5.6.4. Diferencias en los parámetros lipídicos, lipoproteicos, concentraciones plasmáticas de vitaminas, peroxidación sérica y lipoproteica, de mujeres normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas tras el periodo girasol alto oleico</u></b> .....	400
<b><u>5.7. RESUMEN DE LA RESPUESTA DE LAS MUJERES NORMOCOLESTEROLÉMICAS FRENTE A LA DE LAS HIPERCOLESTEROLÉMICAS POR EL CAMBIO DIETÉTICO OLIVA VIRGEN "EXTRA"-GIRASOL ALTO OLEICO</u></b> .....	403
<b><u>6. RESUMEN Y CONCLUSIONES</u></b> .....	407
<b><u>7. BIBLIOGRAFÍA</u></b> .....	415

## ABREVIATURAS

ACAT	Acil colesterol acil transferasa
Acetil CoA	Acetil Coenzima A
Ach	Acetilcolina
ADP	Difosfato de adenosina
AGL	Ácidos grasos libres
AGM	Ácidos grasos monoinsaturados
AGP	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
Apo	Apolipoproteína
ATP	Trifosfato de adenosina
Apo	Apolipoproteína
C <sup>R</sup>	Pool regulador
CE	Pool de ésteres de colesterol
CETP	Complejo de transferencia de ésteres de colesterol
CT	Colesterol total
CV	Coefficiente de variación
DHA	Ácido docosaheptaenoico
DHPE	2-(3,4-dihidroxifenil) etanol
DMDI	Diabetes mellitus dependiente de insulina
DMNDI	Diabetes mellitus no dependiente de insulina
EDHF	Factor hiperpolarizante derivado del endotelio
EDRF	Factor de relajación endotelial
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ETA	Efecto termogénico de los alimentos
FL	Fosfolípidos
GAF	Gasto por actividad física
GAO	Dieta elaborada con aceite de girasol alto oleico
GE	Gasto energético total
GMB	Gasto metabólico basal
GMPc	Monofosfato de guanosina cíclico
HbA1C	Hemoglobina glicosilada
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
15-HETE	15-hidroxi-5,8,11,13-eicosatetraenoico
HMGCoA	β-hidroxi-metil-glutaril-coenzima A
HNE	4-hidroxinonenal
5-HT	Serotonina
HTA	Hipertensión arterial
IC	Índice de colesterol de Zilversmit
ICGS	Índice de colesterol-grasa saturada
IDL	Lipoproteínas de densidad intermedia
IL-1β	Interleuquina 1β
IMC	Índice de masa corporal
IR	Ingesta recomendada
KAG	Índice de Keys, Anderson y Grande
LCAT	Lecitín:colesterol aciltransferasa
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
Lp(a)	Lipoproteína (a)
LPL	Lipoprotein-lipasa endotelial

LRP	Lipoprotein Receptor Protein
LT	Lípidos totales
LTB <sub>4</sub>	Leucotrieno B <sub>4</sub>
MCF	Macrófagos
MCP-1	Proteína quimiotáctica de los monocitos
MDA	Malondialdehído
NA	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
NOS <sub>e</sub>	NO sintetasa endotelial
OVE	Dieta elaborada con aceite de oliva virgen "extra"
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno tisular
PGH <sub>2</sub>	Prostaglandina H <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina I <sub>2</sub>
PKC	Proteína quinasa C
PT	Proteínas totales
PTL	Sistema de transferencia de lípidos
QM	Quilomicrones
QMn	Quilomicrones nacientes
QMr	Quilomicrones remanentes
SREBP	Sterol regulatory element binding protein
T <sub>3</sub>	Triyodotironina
TBARS	Sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicéridos
TGF-β	Transforming growth factor-β
TGLH	Triglicérido lipasa hepática
THF	Tetrahidrofolato
TMB	Tasa metabólica basal
TNF-α	Factor de necrosis tumoral-α
t-PA	Activador tisular del plasminógeno
TRH	Terapia de reemplazamiento hormonal
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Características de las Lp(a) y las LDL en humanos.....	46
Cuadro 2: Características estructurales de la apo(a), el plasminógeno y la apo B100..	47
Cuadro 3: Diferencias entre las NO sintasas.....	57
Cuadro 4: Propiedades de la LDL aórtica en comparación con la LDL plasmática.....	65
Cuadro 5: Factores de riesgo establecidos y propuestos para la enfermedad cardiovascular en hombres y mujeres.....	71
Cuadro 6: Mecanismos aterogénicos de la hipertrigliceridemia diabética.....	80
Cuadro 7: Clasificación fenotípica de las dislipemias.....	87
Cuadro 8: Hiperlipemias primarias.....	88
Cuadro 9: Recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis de 1992.....	90
Cuadro 10: Raciones diarias recomendadas por las <i>Dietary Guidelines</i> .....	112
Cuadro 11: Ingestas de energía recomendadas por el Departamento de Nutrición.....	123
Cuadro 12: Cálculo de la tasa metabólica basal propuesto por la FAO/OMS.....	124
Cuadro 13: Composición en % de los ácidos grasos mayoritarios del aceite de girasol.....	153
Cuadro 14: Contenido en ácidos grasos del aceite de oliva.....	155
Cuadro 15: Principales componentes minoritarios del aceite de oliva virgen.....	155
Cuadro 16: Principales ácidos grasos en el aceite de girasol alto oleico.....	159
Cuadro 17: Principales componentes minoritarios del aceite de girasol alto oleico....	159
Cuadro 18: Ecuaciones predictivas para estimar los cambios en el colesterol, LDL-C y HDL-C plasmáticos en respuesta al colesterol y ácidos grasos dietarios.....	163
Cuadro 19: Actividades desarrolladas en 24 horas.....	212
Cuadro 20: Menú tipo en la población objeto de estudio durante tres meses diferentes.....	215
Cuadro 21: Características y resultados de varios estudios experimentales de intercambio dietético.....	310

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Transporte de los lípidos exógenos hasta el hígado.....	31
Figura 2: Metabolismo de las VLDL e IDL.....	36
Figura 3: Internalización de la LDL a cargo del receptor apo B100, E.....	40
Figura 4: Transporte reverso de colesterol.....	41
Figura 5: Proceso de esterificación del colesterol a través de la acción enzimática de la LCAT.....	43
Figura 6: Ciclo de la HDL y relación entre la degradación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y la conversión de HDL <sub>3</sub> en HDL <sub>2</sub> .....	44
Figura 7: Hipótesis unificada de la aterogénesis que relaciona el aumento de los niveles sanguíneos de lípidos (especialmente LDL-colesterol) con la lesión endotelial.....	52
Figura 8: Efectos de las LDL oxidadas sobre las células arteriales.....	54
Figura 9: Interacción de las plaquetas y el endotelio mediada por el NO.....	56
Figura 10: Sustancias vasoactivas derivadas del endotelio.....	57
Figura 11: Moduladores de la síntesis de endotelina-1.....	58
Figura 12: Principales sucesos que suceden durante la oxidación de la LDL.....	60
Figura 13: Descomposición de los hidroperóxidos lipídicos.....	70
Figura 14: Apo(a) y el plasminógeno: homologías estructurales.....	102
Figura 15: La activación del plasminógeno, un mecanismo mayor de defensa contra la trombosis.....	103
Figura 16: Mecanismo de acción de la Lp(a).....	104
Figura 17: Esquema general que representa los diversos modos de acción asociados con la Lp(a) en la pared vascular.....	106
Figura 18: Recomendaciones de consumo de los alimentos (NRC, 1989).....	111
Figura 19: Rombo de la Nutrición.....	111
Figura 20: Homocisteinemia y enfermedad cardiovascular.....	144

Figura 21: Esquema del flujo del colesterol a través del cuerpo.....	167
Figura 22: Modelo de los pasos principales que regulan las concentraciones de LDL-colesterol.....	168
Figura 23: Mecanismo de regulación de la actividad del LDL-receptor por el balance neto de colesterol a través del hígado.....	170
Figura 24: Movimiento del colesterol desde los tejidos extrahepáticos hasta el hígado a través de la vía HDL-colesterol.....	171
Figura 25: Regulación de la actividad del LDL-receptor por los ácidos grasos saturados.....	173
Figura 26: Regulación de la actividad del LDL-receptor por los ácidos grasos monoinsaturados.....	181
Figura 27: Metabolismo de la homocisteína.....	202
Figura 28: Ingesta de los distintos grupos de alimentos.....	216
Figura 29: Métodos culinarios empleados en la elaboración de los menús.....	217
Figura 30: Diagrama del aparato usado para la separación de las soluciones salinas.....	231
Figura 31: Curva de gradiente de densidad tras 22 horas de ultracentrifugación en una ultracentrífuga con rotor SW41.....	232
Figura 32: Ingesta diaria de energía en los tres periodos dietarios objeto de estudio...	314
Figura 33: Contribución en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta energética.....	315
Figura 34: Ingesta diaria de proteínas para cada miembro del colectivo.....	316
Figura 35: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de proteínas de la dieta.....	317
Figura 36: Ingesta diaria de lípidos en los tres periodos objeto de estudio.....	318
Figura 37: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de grasa de la dieta.....	320
Figura 38: Ingesta diaria de ácidos grasos saturados en los periodos basal, OVE y GAO.....	321
Figura 39: Ingesta diaria de ácidos grasos monoinsaturados en los periodos basal, OVE y GAO.....	321



Figura 40: Ingesta diaria de ácidos grasos poliinsaturados en los periodos basal, OVE y GAO.....	321
Figura 41: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados durante el periodo basal.....	323
Figura 42: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados durante la dieta con aceite de oliva virgen "extra".....	324
Figura 43: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados durante la dieta con aceite de girasol alto oleico.....	325
Figura 44: Ingesta diaria de colesterol durante los tres periodos experimentales.....	327
Figura 45: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de colesterol de la dieta.....	328
Figura 46: Ingesta diaria de hidratos de carbono en los tres periodos experimentales..	330
Figura 47: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de hidratos de carbono.....	330
Figura 48: Ingesta diaria de fibra durante los tres periodos experimentales.....	331
Figura 49: Contribución media de los principales grupos de alimentos a la ingesta de fibra durante los tres periodos experimentales.....	331
Figura 50: Ingesta diaria de vitamina A.....	333
Figura 51: Ingesta diaria de vitamina D.....	333
Figura 52: Ingesta diaria de vitamina E en los periodos basal, OVE y GAO.....	334
Figura 53: Ingesta diaria de vitamina C.....	335
Figura 54: Ingesta diaria de tiamina.....	336
Figura 55: Ingesta diaria de riboflavina.....	337
Figura 56: Ingesta diaria de vitamina B <sub>6</sub> .....	338
Figura 57: Ingesta diaria de niacina.....	338
Figura 58: Ingesta diaria de ácido fólico.....	339
Figura 59: Ingesta diaria de vitamina B <sub>12</sub> .....	340

Figura 60: Ingesta diaria de calcio.....	341
Figura 61: Ingesta diaria de hierro.....	342
Figura 62: Ingesta diaria de yodo.....	343
Figura 63: Ingesta diaria de magnesio.....	344
Figura 64: Ingesta diaria de zinc.....	345
Figura 65: Ingesta diaria de sodio.....	345
Figura 66: Ingesta de potasio.....	346
Figura 67: Valores basales de triglicéridos séricos.....	348
Figura 68: Valores basales de Lp(a).....	349
Figura 69: Valores basales de colesterol total sérico.....	350
Figura 70: Valores basales de colesterol de la HDL.....	351
Figura 71: Valores basales de dos cocientes de riesgo: CT/HDL-C y LDL-C/HDL-C.....	351
Figura 72: Valores basales de colesterol de la LDL.....	352
Figura 73: Valores basales de apolipoproteína B sérica.....	353
Figura 74: Valores basales del cociente antirriesgo Apo AI/Apo B.....	353
Figura 75: Composición en lípidos y proteínas de las partículas Lp(a) durante el periodo basal al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	354
Figura 76: Composición en lípidos y proteínas de las partículas HDL durante el periodo basal al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	355
Figura 77: Correlaciones lineales entre los fosfolípidos, masa y colesterol de las HDL y la peroxidación sérica y peroxidación en las LDL.....	358
Figura 78: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de colesterol total por la sustitución basal-OVE.....	362
Figura 79: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de LDL-colesterol por la sustitución basal-OVE.....	363
Figura 80: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de HDL-colesterol por la sustitución basal-OVE.....	366

Figura 81: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de VLDL-colesterol por la sustitución basal-OVE.....	367
Figura 82: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de Lp(a)-colesterol por la susutitución basal-OVE.....	368
Figura 83: Niveles séricos y lipoproteicos de triglicéridos en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	369
Figura 84: Niveles séricos y lipoproteicos de fosfolípidos en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	369
Figura 85: Niveles séricos y lipoproteicos de la apolipoproteína B en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	371
Figura 86: Composición en lípidos y proteínas de las LDL en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	372
Figura 87: Composición en lípidos y proteínas de las HDL en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	372
Figura 88: Composición en lípidos y proteínas de las VLDL en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	373
Figura 89: Composición en lípidos y proteínas de la Lp(a) en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	374
Figura 90: Niveles plasmáticos individuales y medios de vitamina C y E durante el periodo OVE.....	377
Figura 91: Correlaciones lineales, durante el periodo oliva virgen "extra", entre los niveles plasmáticos de $\beta$ -caroteno total, criptoxantina y vitamina A, y los niveles plasmáticos de vitamina E, así como las correlaciones lineales entre los niveles plasmáticos de vitamina A, vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) y $\gamma$ -tocoferol y los niveles séricos de peróxidos.....	377
Figura 92: Composición en lípidos y proteínas de las partículas LDL durante el periodo oliva virgen "extra" al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	379
Figura 93: Composición en lípidos y proteínas de las partículas Lp(a) durante el periodo oliva virgen "extra" al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	380
Figura 94: Composición en lípidos y proteínas de las partículas HDL durante el periodo oliva virgen "extra" al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	381

Figura 95: Cambios en los niveles de LDL-colesterol por el cambio dietético basal-oliva virgen “extra”, tanto en el colectivo completo, como en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	383
Figura 96: Cambios en los niveles de LDL-fosfolípidos por el cambio dietético basal-oliva virgen “extra”, tanto en el colectivo completo, como en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	383
Figura 97: Cambios en los niveles de Apo AII por el cambio dietético basal-oliva virgen “extra”, tanto en el colectivo completo, como en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	384
Figura 98: Cambios en el cociente Apo AI/Apo AII por el cambio dietético basal-oliva virgen “extra”, tanto en el colectivo completo, como en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	385
Figura 99: Cambios en los niveles séricos de Lp(a)-colesterol por el cambio dietético basal-oliva virgen “extra”, tanto en el colectivo completo, como en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	385
Figura 100: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de Lp(a)-colesterol entre los periodos OVE y GAO.....	388
Figura 101: Niveles séricos y lipoproteicos de triglicéridos en los periodos oliva virgen “extra” y girasol alto oleico.....	389
Figura 102: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de fosfolípidos totales entre los periodos OVE y GAO.....	390
Figura 103: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de HDL-fosfolípidos entre los periodos OVE y GAO.....	390
Figura 104: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de Apo AI entre los periodos OVE y GAO.....	391
Figura 105: Diferencias individuales y media en los niveles séricos de Apo AII entre los periodos OVE y GAO.....	391
Figura 106: Diferencias individuales y media en el cociente Apo AI/Apo B entre los periodos OVE y GAO.....	393
Figura 107: Composición en lípidos y proteínas de las LDL en los periodos oliva virgen “extra” y girasol alto oleico.....	393
Figura 108: Composición en lípidos y proteínas de las VLDL en los periodos oliva virgen “extra” y girasol alto oleico.....	394
Figura 109: Composición en lípidos y proteínas de las Lp(a) en los periodos oliva virgen “extra” y girasol alto oleico.....	395

Figura 110: Composición en lípidos y proteínas de las HDL en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	395
Figura 111: Diferencias individuales y media en los niveles de peróxidos séricos entre los periodos OVE y GAO.....	397
Figura 112: Diferencias individuales y media en los niveles plasmáticos de vitamina E entre los periodos OVE y GAO.....	398
Figura 113: Diferencias individuales y media en el cociente $\alpha$ -tocoferol/colesterol total entre los periodos OVE y GAO.....	399
Figura 114: Niveles plasmáticos de licopenos y vitamina A: retinol en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	399
Figura 115: Composición en lípidos y proteínas de las partículas LDL durante el periodo girasol alto oleico al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	401
Figura 116: Composición en lípidos y proteínas de las partículas Lp(a) durante el periodo girasol alto oleico al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	401
Figura 117: Composición en lípidos y proteínas de las partículas HDL durante el periodo girasol alto oleico al dividir la población en normocolesterolémicas e hipercolesterolémicas.....	402
Figura 118: Cambios en los niveles plasmáticos de $\gamma$ -tocoferol por el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico, tanto en el colectivo completo, como en normo e hipercolesterolémicas.....	404
Figura 119: Cambios en los niveles séricos de Lp(a)-fosfolípidos por el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico, tanto en el colectivo completo, como en normo e hipercolesterolémicas.....	404
Figura 120: Cambios en los niveles de peróxidos séricos totales por el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico, tanto en el colectivo completo, como en normo e hipercolesterolémicas.....	405
Figura 121: Cambios en los niveles séricos de VLDL-Apo B por el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico, tanto en el colectivo completo, como en normo e hipercolesterolémicas.....	405

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características generales de la población.....	247
Tabla 2: Gasto energético total y parámetros relacionados en el colectivo estudiado..	248
Tabla 3: Frecuencia de consumo de alimentos en la población objeto de estudio.....	248
Tabla 4: Medias de las cantidades diarias consumidas de los diferentes alimentos.....	249
Tabla 5: Composición en ácidos grasos de los aceites utilizados en los periodos dietarios.....	250
Tabla 6: Componentes minoritarios de los aceites utilizados en los periodos dietarios.....	251
Tabla 7: Ingesta de energía y macronutrientes durante las dietas del periodo basal, periodo de aceite de oliva virgen "extra" y de aceite de girasol alto oleico.....	252
Tabla 8: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta de energía, macronutrientes, colesterol y fibra, en el periodo basal, y periodos experimentales, para las 14 monjas objeto de estudio.....	253
Tabla 9: Ajuste de la ingesta calórica al gasto energético en los periodos basal, oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	254
Tabla 10: Ajuste a la ingesta recomendada e índice de calidad nutricional de proteínas, en los periodos basal, oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	254
Tabla 11: Ingesta de minerales y vitaminas durante las tres dietas a estudio.....	255
Tabla 12: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de minerales, en el periodo basal, y periodos experimentales.....	256
Tabla 13: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de vitamina E, en el periodo basal, oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	257
Tabla 14: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de algunas vitaminas, en los tres periodos estudiados.....	257
Tabla 15: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria del resto de vitaminas, en los tres periodos dietarios.....	258
Tabla 16: Ajuste a las ingestas recomendadas de minerales y vitaminas durante los tres periodos de estudio.....	259

Tabla 17: Densidad de nutrientes e índice de calidad nutricional de minerales y vitaminas durante las dietas basal, aceite de oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	260
Tabla 18: Porcentaje de energía en kilocalorías que aportan los lípidos y los principales ácidos grasos durante las tres dietas a estudio.....	261
Tabla 19: Consumo de ácidos grasos (g/día) durante el periodo basal.....	262
Tabla 20: Consumo de ácidos grasos (g/día) durante el periodo de aceite de oliva virgen "extra".....	263
Tabla 21: Consumo de ácidos grasos (g/día) durante el periodo de aceite de girasol alto oleico.....	264
Tabla 22: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de ácidos grasos en el periodo basal.....	265
Tabla 23: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de ácidos grasos en el periodo oliva virgen "extra".....	266
Tabla 24: Contribuciones medias en porcentaje de los distintos grupos de alimentos a la ingesta diaria de ácidos grasos en el periodo girasol alto oleico.....	267
Tabla 25: Concentraciones séricas de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en los catorce miembros del colectivo durante el periodo basal.....	268
Tabla 26: Concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo basal....	269
Tabla 27: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo basal.....	269
Tabla 28: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo basal.....	270
Tabla 29: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) de los catorce miembros del colectivo durante el periodo basal.....	270
Tabla 30: Cocientes de "riesgo-antirriesgo" de la población objeto de estudio durante el periodo basal.....	271
Tabla 31: Concentraciones séricas de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	272
Tabla 32: Concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	272

Tabla 33: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	273
Tabla 34: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	273
Tabla 35: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) de los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	274
Tabla 36: Cocientes de "riesgo-antirriesgo" de la población objeto de estudio durante el periodo oliva virgen "extra".....	274
Tabla 37: Concentraciones plasmáticas de vitaminas de los catorce miembros del colectivo durante el periodo oliva virgen "extra".....	275
Tabla 38: Concentraciones séricas de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico..	276
Tabla 39: Concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico.....	276
Tabla 40: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico.....	277
Tabla 41: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL de los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico.....	277
Tabla 42: Concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) de los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico.....	278
Tabla 43: Cocientes de "riesgo-antirriesgo" de la población objeto de estudio durante el periodo girasol alto oleico.....	278
Tabla 44: Concentraciones plasmáticas de vitaminas de los catorce miembros del colectivo durante el periodo girasol alto oleico.....	279
Tabla 45: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en suero tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	280
Tabla 46: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	280
Tabla 47: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	281



Tabla 48: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	281
Tabla 49: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	282
Tabla 50: Diferencias, para todo el colectivo, en distintos cocientes de "riesgo-antirriesgo" tras el cambio dietético basal-oliva virgen "extra".....	282
Tabla 51: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en suero tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	283
Tabla 52: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	284
Tabla 53: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	285
Tabla 54: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	286
Tabla 55: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	286
Tabla 56: Diferencias, para todo el colectivo, en distintos cocientes de "riesgo-antirriesgo" tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	287
Tabla 57: Diferencias, para todo el colectivo, en las concentraciones plasmáticas de vitaminas tras el cambio dietético oliva virgen "extra"-girasol alto oleico.....	288
Tabla 58: Coeficientes de correlación de Pearson entre los niveles plasmáticos de diferentes vitaminas y de éstas con los niveles séricos de peróxidos y de LDL-peróxidos durante el periodo oliva virgen "extra", para el total del colectivo objeto de estudio.....	289
Tabla 59: Niveles séricos de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	290
Tabla 60: Niveles de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	292

Tabla 61: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	294
Tabla 62: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	295
Tabla 63: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	296
Tabla 64: Algunos cocientes de "riesgo-antirriesgo" de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos basal y oliva virgen "extra".....	298
Tabla 65: Concentraciones plasmáticas de vitaminas de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	300
Tabla 66: Niveles séricos de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	302
Tabla 67: Niveles de lípidos, apolipoproteínas y peroxidación lipídica en las partículas LDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	303
Tabla 68: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas HDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	305
Tabla 69: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas VLDL de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	306
Tabla 70: Niveles de lípidos y apolipoproteínas en las partículas Lp(a) de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	308
Tabla 71: Algunos cocientes de "riesgo-antirriesgo" de mujeres Normocolesterolémicas e Hipercolesterolémicas en los periodos oliva virgen "extra" y girasol alto oleico.....	309



## **1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **1.1. METABOLISMO LIPÍDICO**

Los lípidos son un grupo complejo y diverso de moléculas que tienen en común su insolubilidad en solventes acuosos. Varios compuestos químicos presentes en los alimentos y en el cuerpo se clasifican como lípidos. Estos son: los triglicéridos, los fosfolípidos, el colesterol y otros de menor importancia. El componente lípido básico de los triglicéridos y de los fosfolípidos son los ácidos grasos, que son simplemente ácidos orgánicos hidrocarbonados de cadena larga. Aunque el colesterol libre no contiene ácidos grasos, su núcleo esterol se sintetiza a partir de los productos de degradación de las moléculas de ácidos grasos, lo que le proporciona muchas de las propiedades físicas y químicas de las otras sustancias lipídicas. Además, la molécula de colesterol libre puede esterificarse con ácidos grasos formando el colesterol esterificado.

Las funciones de las moléculas incluidas en este grupo son muy variadas y prácticamente todas las células están implicadas en su consumo. Tanto el colesterol como los triglicéridos son moléculas indispensables para el organismo, puesto que aportan energía, como los triglicéridos, o intervienen en la síntesis de membranas en el caso del colesterol. Además, el colesterol constituye el sustrato sintético para la formación de hormonas esteroideas y ácidos biliares en tejidos especializados.

Aunque el consumo de estas moléculas es general en los distintos tejidos, sus lugares de aporte al organismo son bien concretos. Así, los lípidos procedentes de la ingesta, es decir, de origen exógeno son aportados al organismo a través del intestino, mientras que la síntesis endógena está a cargo principalmente del hígado. La relativa especialización de los diversos tejidos en la utilización metabólica de los lípidos, hace necesario un transporte plasmático de los mismos. Para este transporte, es necesaria su incorporación en unos complejos que permitan su solubilización y que contengan además la información adecuada para su correcta metabolización. Si bien existe una gran cantidad de proteínas transportadoras específicas de moléculas lipídicas concretas, cuantitativamente destacan las partículas destinadas al transporte de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos, que son los lípidos mayoritarios del organismo. Estas partículas son una serie de macromoléculas complejas denominadas lipoproteínas con distintas estructuras y composición dependiendo de que partícula se trate (Jackson y col., 1976; Morrisett y col., 1977).

En general, todas las lipoproteínas tienen unas características comunes, presentando una estructura de carácter anfipático (Smith y col., 1978) con los siguientes componentes:

- **Cubierta anfipática:** Está constituida por una capa de fosfolípidos cuyas cabezas polares están dirigidas hacia el exterior de la partícula, es decir, hacia el medio iónico, mientras que sus ácidos grasos se orientan hacia el interior formando un núcleo apolar. La cubierta presenta algunas moléculas de colesterol libre con un grupo hidroxilo dirigido hacia las cabezas polares de los fosfolípidos. Además de fosfolípidos y colesterol libre, ambos claramente relacionados con las características fisicoquímicas de la partícula y con su capacidad de interacción no saturable (Tabas y Tall, 1984), la cubierta anfipática presenta una serie de cadenas polipeptídicas, las apolipoproteínas (Apo). Estas son elementos clave en el metabolismo de los lípidos, ya que no sólo desarrollan una función estructural, sino que dirigen el metabolismo de las lipoproteínas modulando la actividad de diversos sistemas enzimáticos y constituyendo los lugares específicos de reconocimiento por parte de receptores de membrana.
- **Núcleo apolar:** Es un microentorno de carácter hidrofóbico constituido por lípidos no polares, colesterol esterificado y triglicéridos, que se pueden considerar como lípidos transportados.

Estas partículas están sometidas a procesos metabólicos sumamente dinámicos en los que se producen intercambios de material lipídico y proteico entre las distintas partículas, de forma que éstas no presentan una estructura estática, sino que están en continua reorganización. Así, la estructura de una lipoproteína depende del estado metabólico de cada partícula en cada momento concreto.

El hecho de contener en su estructura una cantidad variable de lípidos, hace que las lipoproteínas posean una densidad inferior a la del resto de las proteínas plasmáticas. La distinta proporción de lípidos y proteínas confiere a la lipoproteína unas propiedades de densidad características; así a medida que aumenta el contenido en proteínas respecto al contenido en lípidos se observa un aumento de la densidad de las partículas. La densidad de la partícula constituye el principal criterio de clasificación de las lipoproteínas en diferentes familias (Havel y col., 1955).

Las principales familias de lipoproteínas son las siguientes:

- a) Quilomicrones:  $\rho_{20} < 0,95$  g/mL.
- b) Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL):  $\rho_{20} = 0,95-1,006$  g/mL.

- c) Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL):  $\rho_{20} = 1,006-1,019$  g/mL.
- d) Lipoproteínas de baja densidad (LDL):  $\rho_{20} = 1,019-1,063$  g/mL.
- e) Lipoproteínas de alta densidad (HDL):  $\rho_{20} = 1,063-1,21$  g/mL. Estas lipoproteínas se subdividen con frecuencia en dos subtipos: HDL<sub>2</sub> con  $\rho_{20} = 1,063-1,125$  g/mL y HDL<sub>3</sub> con  $\rho_{20} = 1,125-1,210$  g/mL.
- f) Lipoproteína (a) (Lp (a)):  $\rho_{20} = 1,055-1,085$  g/mL.

### Apolipoproteínas:

Las apolipoproteínas constituyen la parte proteica de las lipoproteínas y cada una de las partículas puede contener varios tipos. La cantidad y tipo de apolipoproteínas presentes en una partícula va a depender en cada momento del tipo de partícula y de su estadio metabólico concreto. Algunas apolipoproteínas no son intercambiables y permanecen siempre en la lipoproteína en que han sido secretadas. Por el contrario, otras sí son intercambiables (Havel y col., 1973), la mayoría susceptibles de modificaciones postraduccionales (Zannis y col., 1982) y todas ellas portadoras de la información necesaria para la correcta metabolización de la partícula (Goldstein y col., 1974; Mahley y col., 1976; Pitas y col., 1979; Mahley y col., 1979). Las apolipoproteínas más importantes son las siguientes:

- a) *Apo B*: Se presenta en dos variantes fundamentales, apo B100 (de síntesis hepática) y apo B48 (de síntesis intestinal) (Hoeg y col., 1990; Levy y col., 1990; Lopez-Miranda y col., 1994). La primera tiene un peso molecular aproximado de 540.000 y la segunda de aproximadamente 250.000. Ambas formas de apo B están codificadas por el mismo gen, pero mientras en el hígado el RNAm producto de la transcripción del mismo es procesado de la forma habitual, en el intestino es parcialmente modificado introduciéndose una señal de fin de síntesis prematura que da lugar en la traducción a la apo B48 (Young y col., 1986; Chen y col., 1987; Innerarity y col., 1987; Brown y Goldstein, 1987; Powell y col., 1987; Driscoll y col., 1990; Lau y col., 1991). La apo B100 se encuentra en las LDL, VLDL e IDL. La apo B48 forma parte de los quilomicrones. Ambas apo B tienen una función estructural muy importante y, en consecuencia, no son transferibles. Además la apo B100 constituye el determinante de unión (extremo C-terminal de la apo B100, no presente en la apo B48) de las lipoproteínas al receptor de Goldstein y Brown.

- b) *Apo E*: Es una apolipoproteína genéticamente heterogénea, controlada por dos alelos codominantes (Zannis y Breslow, 1981), transferible y que se encuentra en todas las familias de lipoproteínas salvo en las LDL. Se sintetiza en el hígado, en su forma de secreción plasmática contiene 299 aminoácidos y posee un peso molecular de aproximadamente 34.000. Existen diversas variantes genéticas, de todas ellas las proteínas conocidas como apo E4, apo E3 y apo E2 son las que presentan una mayor difusión entre la población (Utermann y col., 1980; Zannis y col., 1981). Estas variantes exhiben diferencias en su carga neta, y, por tanto, en su afinidad por los receptores celulares. Su función primordial es el reconocimiento de las lipoproteínas por parte de receptores de membrana como el *Lipoprotein Receptor Protein* (LRP) y el receptor de Goldstein y Brown (Mahley, 1988; Beisiegel y col., 1989). Esta capacidad de unión en el caso de los quilomicrones residuales (Mahley y col., 1981) y HDL con apo E (Pitas y col., 1979), parece ser importante para su catabolismo, ya que se ha demostrado que cuando existe una deficiencia de apo E se produce una importante acumulación de estas lipoproteínas (Schaefer y col., 1986). El papel fisiológico de su presencia en la parte superficial de las VLDL (accesible a trombina) no está claro, aunque es posible que intervenga en la última fase de la conversión de IDL en LDL (Brown y col., 1983).
- c) *Apo C* (Nozaki y col., 1986): Son una familia de péptidos de síntesis hepática y bajo peso molecular (6.000-9.000). Se encuentran sobre todo en las lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL y quilomicrones) y, en menor medida, en las HDL. Existen tres tipos:
- *Apo CI*: Es una apolipoproteína de pequeño tamaño (57 aminoácidos). Parece activar la lecitín: colesterol aciltransferasa (LCAT), en una forma dependiente del grado de saturación de fosfatidilcolina (Soutar y col., 1975) e inhibir la triglicérido lipasa hepática (TGLH), si bien su función no está bien definida.
  - *Apo CII*: Es una proteína de 78 aminoácidos y un peso molecular de aproximadamente 8.800. Su principal función es actuar como activador indispensable de la lipoproteín-lipasa endotelial (LPL). Para ello la apo CII presenta varias zonas características (Pownall, 1980), una primera zona (aminoácidos 62-74) se une a la LPL, otra (aminoácidos 43-51) a los fosfolípidos de la partícula rica en triglicéridos que la contiene, y entre ambas parece existir una zona que favorece la actividad del enzima. Es una

apolipoproteína altamente transferible y su alta afinidad por los fosfolípidos hace que se postule que su transferencia entre partículas se realice conjuntamente con los mismos (Redgrave y Small, 1979). Tanto un déficit como un exceso de apo CII en las lipoproteínas ricas en triglicéridos, han sido asociados con la presencia de hipertrigliceridemia. En un caso por falta de activación de la LPL (Breckenridge y col., 1978), y en el otro por una deformación (efecto surfactante) de la partícula (Stocks y col., 1981).

- Apo CIII: Forma parte de los quilomicrones, VLDL y HDL. Esta proteína consta de 79 aminoácidos y está codificada por un gen que se encuentra en el brazo largo del cromosoma 11 (Bruns y col., 1984). Se sintetiza principalmente en el hígado y en menor cantidad en el intestino (Zannis y col., 1985). Aparte de su función estructural, se ha observado que la apo CIII, in vitro, inhibe la LPL (Wang y col., 1985) e impide la captación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos por sus receptores específicos, a pesar de contener apo E. Concretamente inhibe la captación de estas lipoproteínas por parte del receptor de la LDL pero no así el aclaramiento relacionado con la LRP (Weisgraber y col., 1990; Kowal y col., 1990). De acuerdo con las observaciones in vitro, se ha demostrado que la excesiva expresión del gen humano de la apo CII, provocada en ratones transgénicos, conduce a una hipertrigliceridemia severa (Ito y col., 1990).

d) *Apo AI*: Es una proteína de 243 aminoácidos, y un peso molecular de aproximadamente 29.000. Constituye el principal componente proteico de las HDL. Se sintetiza en hígado y en la mucosa intestinal en forma de pre-pro-apo AI. Posteriormente, será primero transformada en pro-apo AI como forma de secreción, y en apo AI en el plasma gracias a la actividad de un sistema convertidor (Zannis y col., 1983). Su función consiste en activar la LCAT (Soutar y col., 1975b) y formar parte del complejo de transferencia de ésteres de colesterol (Fielding y Fielding, 1980). El papel fisiológico de esta apo parece restringido a su localización en HDL (sustrato obligatorio para la LCAT) (Glomset y col., 1970). De esta manera, la apo AI sintetizada en el intestino y transportada por los quilomicrones (Nicols y col., 1980), no parece desempeñar en los mismos ninguna función adicional a la correspondiente a la transferencia del exceso de su material de superficie a las HDL que ocurre durante su catabolismo. Por último, algunos autores proponen que la apo AI constituye el



ligando de reconocimiento de las HDL por parte de receptores específicos de membrana.

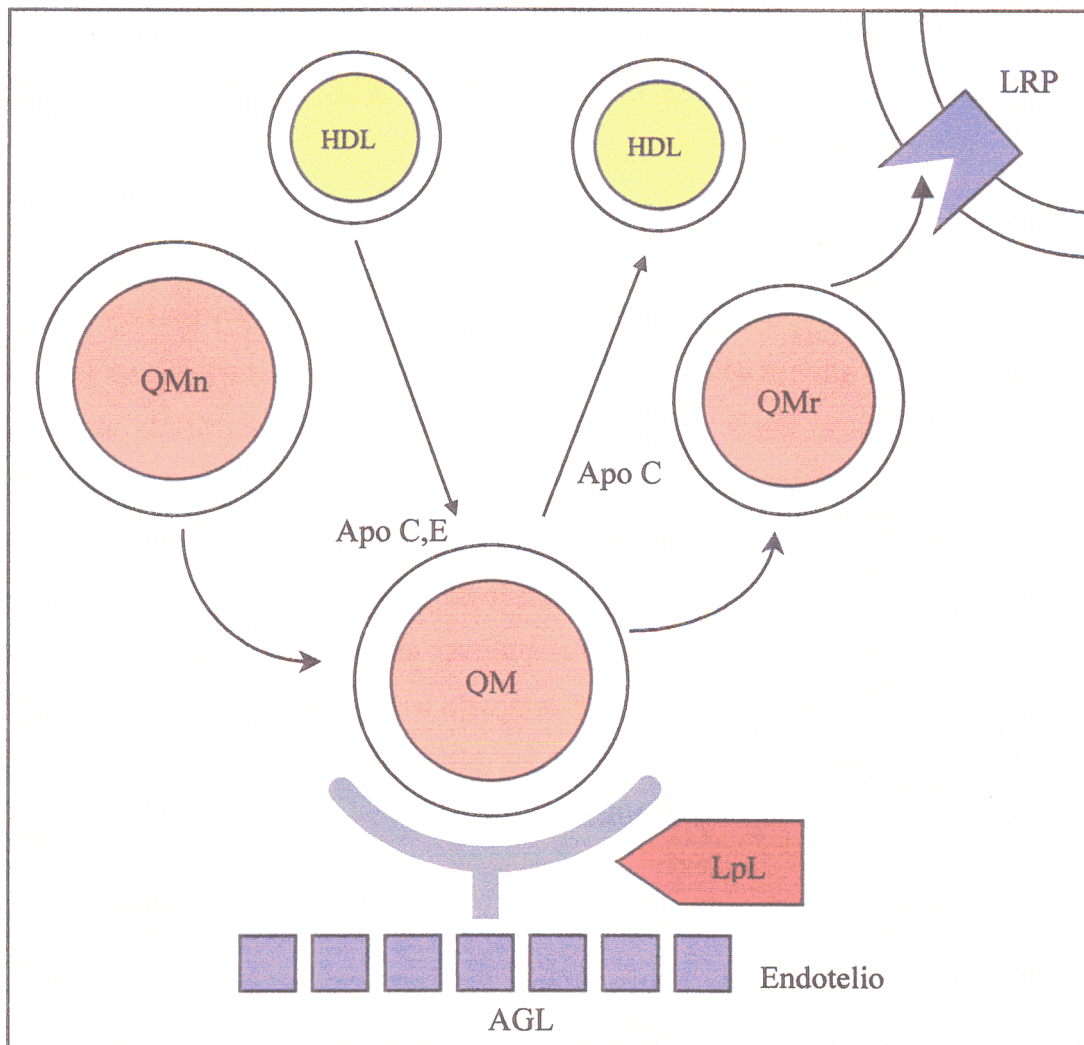
e) *Apo AII*: Es una apolipoproteína de síntesis fundamentalmente hepática, formada por dos cadenas de 77 aminoácidos y con un peso molecular de aproximadamente 17.000. Al igual que la apo AI, es sintetizada como pre-pro-apo AII, transformada en pro-apo AII como forma de secreción, y en apo AII ya en plasma. Forma parte de las HDL, su capacidad de interacción con los fosfolípidos es más intensa que la de la apo AI y aunque su significación funcional no está clara, parece inhibir la actividad LCAT y activar la TGLH. Tiene una gran tendencia a asociarse con la apo E mediante puentes disulfuro.

f) *Apo AIV*: En humanos la síntesis de apo AIV se realiza principalmente en el intestino como una glicoproteína de 46kD (Green y col., 1980). Mediante la separación de las lipoproteínas por ultracentrifugación, se detecta que la mayor parte de la apo AIV se halla libre en el plasma, encontrándose pequeñas cantidades en los quilomicrones, VLDL y HDL (Ohta y col., 1985; Bisgaier y col., 1985). Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que utilizando la cromatografía de exclusión por tamaño de partícula, más del 70% de la apo AIV plasmática está unida a las HDL (Lagrost y col., 1989). La función precisa de esta apolipoproteína se desconoce, sin embargo parece ser de extraordinaria importancia en la absorción de la grasa dietaria y en la síntesis de los quilomicrones (Schaefer y col., 1985; Ordovas y col., 1989). Estudios in vitro demostraron que la activación de la LPL por parte de la apo CII está mediada por la apo AIV (Goldberg y col., 1990), y que esta apo puede servir como un activador de la LCAT (Steinmetz y col., 1985). Existen evidencias de que la apo AIV puede ser uno de los ligandos para el supuesto receptor de HDL (Stein y col., 1986; Steinmetz y col., 1990; Weinberg y col., 1990). Por lo tanto esta apolipoproteína juega un papel fundamental en la absorción de grasa dietaria y en el transporte reverso del colesterol.

El metabolismo lipoproteico puede dividirse en tres etapas básicas:

1. Transporte de los lípidos exógenos hasta el hígado.
2. Síntesis endógena de lípidos y su transporte a los tejidos periféricos.
3. Transporte reverso de lípidos.

### 1.1.1. Transporte de los lípidos exógenos hasta el hígado (Figura 1)



**Figura 1.** Transporte de los lípidos exógenos hasta el hígado. QM: Quilomicrones; QMn: Quilomicrones nacientes; QMr: Quilomicrones remanentes; AGL: Ácidos grasos libres.

#### 1.1.1.1. Absorción de los lípidos de la dieta

Las grasas dietarias, mayoritariamente formadas por triglicéridos, fosfolípidos, colesterol libre y colesterol esterificado, llegan al intestino delgado donde se mezclan con la secreción biliar, formándose unas micelas, que son pequeños glóbulos esféricos cilíndricos de 3 a 6 nm de diámetro y formados por 20 a 40 moléculas de sales biliares, que protegen en su interior los lípidos no polares (triglicéridos y colesterol esterificado). Sobre estas formaciones micelares actúan diversos enzimas pancreáticos necesarios para la absorción de los componentes grasos de la dieta y también actúan como medio de transporte de los

monoglicéridos y de los ácidos grasos libres, que de otra forma permanecerían relativamente insolubles, a través de los ribetes en cepillo de las células epiteliales intestinales.

El páncreas secreta al duodeno, entre otros, un conjunto de enzimas lipolíticos que pueden actuar sobre las micelas previamente formadas:

- La **lipasa pancreática**, es la enzima más importante para la digestión de los triglicéridos, y está presente en enormes cantidades en el jugo pancreático. Este enzima es específica para ésteres en la posición  $\alpha$  del glicerol y prefiere ácidos grasos de más de 10 átomos de carbono. Hidroliza parcialmente los triglicéridos dando lugar a ácidos grasos libres y 2-monoglicéridos. La forma purificada del enzima es fuertemente inhibida por los ácidos biliares que normalmente están presentes en el intestino delgado durante la digestión de lípidos. El problema de la inhibición se supera mediante la adición de una proteína, denominada **colipasa**, de un peso molecular aproximado de 11.000 que se encuentra normalmente en el jugo pancreático. Esta proteína forma un complejo estabilizador con la lipasa que ya no es sensible a la inhibición por los ácidos biliares. Los productos de esta hidrólisis penetran en los enterocitos por difusión pasiva.
- La **colesterol esterasa pancreática**, hidroliza el colesterol esterificado dando lugar a colesterol libre y ácidos grasos libres. Este enzima necesita para su actividad la interacción con los ácidos biliares presentes en las micelas. El colesterol libre se absorbe fundamentalmente a nivel del íleon, pero de forma incompleta ya que cuando la ingesta diaria de colesterol sobrepasa los 500 mg/día, la absorción se reduce hasta el 30-35%.
- La **fosfolipasa A<sub>2</sub> pancreática**, hidroliza los fosfolípidos presentes en la dieta, actúa sobre la lecitina dando lugar a ácidos grasos libres y 1-acil-lisolecitina, que probablemente puede difundir al enterocito en forma micelar. Esta enzima precisa ácidos biliares para su actividad.

#### 1.1.1.2. Síntesis de los quilomicrones

Se forman en la mucosa del intestino. Los lípidos hidrolizados procedentes de la

absorción intestinal son reesterificados en el enterocito constituyendo de nuevo triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol que se ensamblan con las apo B48, AI, AII y AIV fundamentalmente, que también son sintetizadas por el propio enterocito (Kane y col., 1980), formándose así los *quilomicrones nacientes* (Tytgat y col., 1971; Friedman y Cardell, 1972; Dixon y col., 1993), que pasan al espacio linfático y a través del conducto torácico penetran en el plasma, donde estas partículas sufren un proceso de maduración en el que entran en contacto con las HDL y adquieren las apo E y apo C (Havel y col., 1973; Green y col., 1979). Estas apolipoproteínas permitirán posteriormente el reconocimiento de estas partículas por parte de la LPL (apo CII) y del hígado (apo E).

#### 1.1.1.3. *Catabolismo de los quilomicrones*

La apo CII permite al quilomacrón maduro interaccionar con la LPL. Este sistema enzimático está anclado en el endotelio vascular y, al ser activado por la apo CII (Fielding y Havel, 1977; Havel, 1986; Glickman y col., 1988), hidroliza los triglicéridos del quilomacrón liberando ácidos grasos libres, glicerol y residuos de quilomicrones (*quilomicrones remanentes*). Estos ácidos grasos libres pasan al tejido subyacente para su utilización o almacenamiento (Nestel y col., 1982). Las principales zonas del organismo en que existe LPL son: tejido adiposo, músculo esquelético, miocardio y glándula mamaria. La LPL de corazón y músculo esquelético puede hidrolizar triglicéridos aunque éstos se encuentren a bajas concentraciones (Fielding, 1976), consumiéndolos como fuente de energía. Tras una ingesta de grasas, el enzima muscular estaría saturado y podría actuar la LPL del tejido adiposo de baja afinidad con funciones de almacenamiento.

La depleción de los triglicéridos del núcleo de los quilomicrones, por acción de la LPL, da lugar a un exceso de material en su superficie (apo AI, apo AII, fosfolípidos, etc.) pudiendo originar, para mantener su conformación esférica, partículas con características semejantes a HDL nacientes (Tall y col., 1977) o ser transferida a las HDL<sub>3</sub> para formar HDL<sub>2</sub> (Patsch y col., 1978).

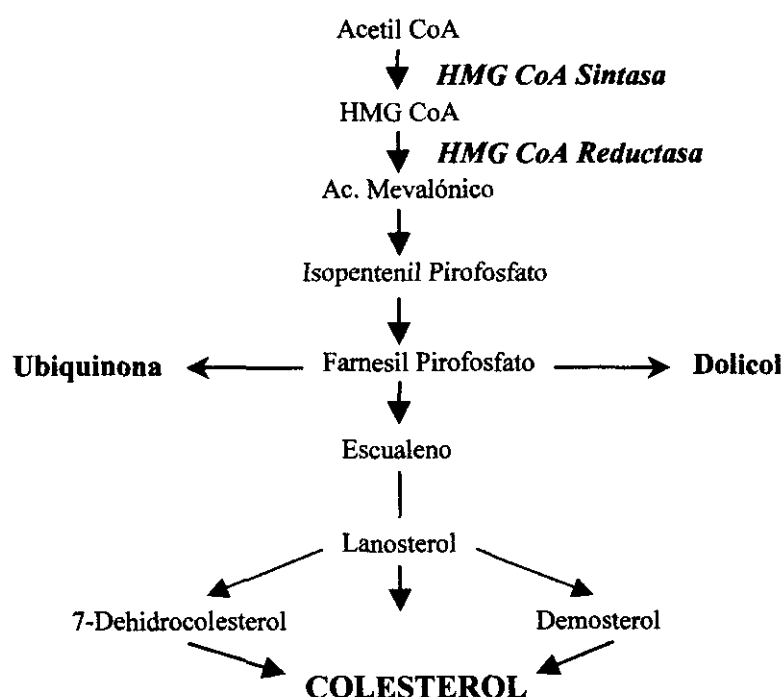
Los quilomicrones remanentes, que contienen apo B48, apo E, colesterol esterificado y algunos residuos de triglicéridos, ya no son degradables por la LPL ya que han perdido su contenido en apo C y en consecuencia su capacidad de interacción con la LPL. Estas partículas tienen una vida plasmática muy corta, siendo captados rápidamente por el hígado a través de un receptor específico, el LRP, que reconoce la apo E de los quilomicrones remanentes (Carrella y Cooper, 1979; Hui y col., 1981; Beisiegel y col., 1989; Rubinsztein y

col., 1990; Willnow y col., 1994). Este proceso de captación puede ser regulado por diversos factores. El colesterol procedente de los quilomicrones es temporalmente almacenado en el citosol de los hepatocitos como colesterol esterificado (Chang y col., 1993), el cual es posteriormente hidrolizado, y el colesterol libre es eliminado en la bilis, oxidado en ácidos biliares, o vertido de nuevo al plasma en las lipoproteínas (Sherrill y Dietschy, 1977).

### 1.1.2. Síntesis endógena de lípidos y su transporte a los tejidos periféricos

Prácticamente todos los tejidos del cuerpo pueden sintetizar, en mayor o menor medida, colesterol a partir de su precursor, el acetil coenzima A (acetil CoA) (Stange y col., 1983; Spady y col., 1983; Dietschy y col., 1993). Sin embargo, la síntesis de colesterol en el organismo se da preferentemente en el hígado. Asimismo, los ácidos grasos libres, además de proceder de la grasa dietaria o del tejido adiposo, pueden ser sintetizados *de novo* por dicho órgano. Ambos tipos de lípidos pueden sintetizarse a partir de acetil CoA, molécula que a su vez puede proceder de cualquiera de los macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas o grasas) de la dieta.

La vía de síntesis intracelular de colesterol es un proceso relativamente complejo que se muestra a continuación.



En la ruta de génesis del colesterol destacan 3 grupos de reacciones:

A) *Conversión del acetil CoA en  $\beta$ -hidroxi-metil-glutaril-coenzima A (HMG CoA).*

Los intermediarios de esta reacción derivan del acetil CoA y de la oxidación de los ácidos grasos. El paso determinante en la biosíntesis del colesterol es la reducción del HMG CoA a mevalonato por acción de la HMG CoA reductasa. Esta enzima utiliza NADPH como reductor y su pH óptimo es de 7. La actividad reductasa sufre cambios apreciables durante el desarrollo del feto y en el recién nacido, hasta alcanzar los valores basales en el adulto, acompañados de idénticas fluctuaciones en la síntesis de colesterol (Kenelly y col., 1985). Esta enzima presenta, además un ritmo circadiano que se encuentra bajo control hormonal, y su variación resulta de una alteración compleja de hormonas tales como la insulina, glucagón, corticoides, prolactina, triyodotironina ( $T_3$ ), etc., cuyos niveles a su vez cambian en respuesta al tipo de alimentación (Gill y col., 1985). Entre los posibles factores que podrían actuar modulando la actividad reductasa se encuentran: la composición lipídica de las membranas microsomales, las proteínas citosólicas transportadoras de lípidos y las sales biliares (Mitropoulos y col., 1978; Ramírez y col., 1978; Sabine y col., 1978).

B) *Conversión de mevalonato en escualeno.* Una pequeña cantidad de mevalonato puede ser convertido en ácidos grasos y dióxido de carbono (Edmond y Popjak, 1974).

C) *Conversión de escualeno en colesterol.* Estas reacciones son catalizadas por enzimas ligados a membranas. En este último paso, proteínas transportadoras de esteroides aceleran el proceso al facilitar la solubilización de estos esteroides en el citosol (Zakim, 1982).

#### 1.1.2.1. *Vehiculización de los lípidos endógenos en VLDL (Figura 2)*

Los lípidos de origen hepático, colesterol y triglicéridos, son vehiculizados por el hígado a través de las *lipoproteínas de muy baja densidad* o VLDL ya que la capacidad de almacenamiento en los hepatocitos es limitada. Las VLDL secretadas de forma “naciente” son ricas en triglicéridos y apo B100, además de apo E y apo C, aunque su contenido en estas últimas no es el definitivo (Nesstrucck y Rubinstein, 1976; Dixon y col., 1993). Además contienen colesterol libre y fosfolípidos.

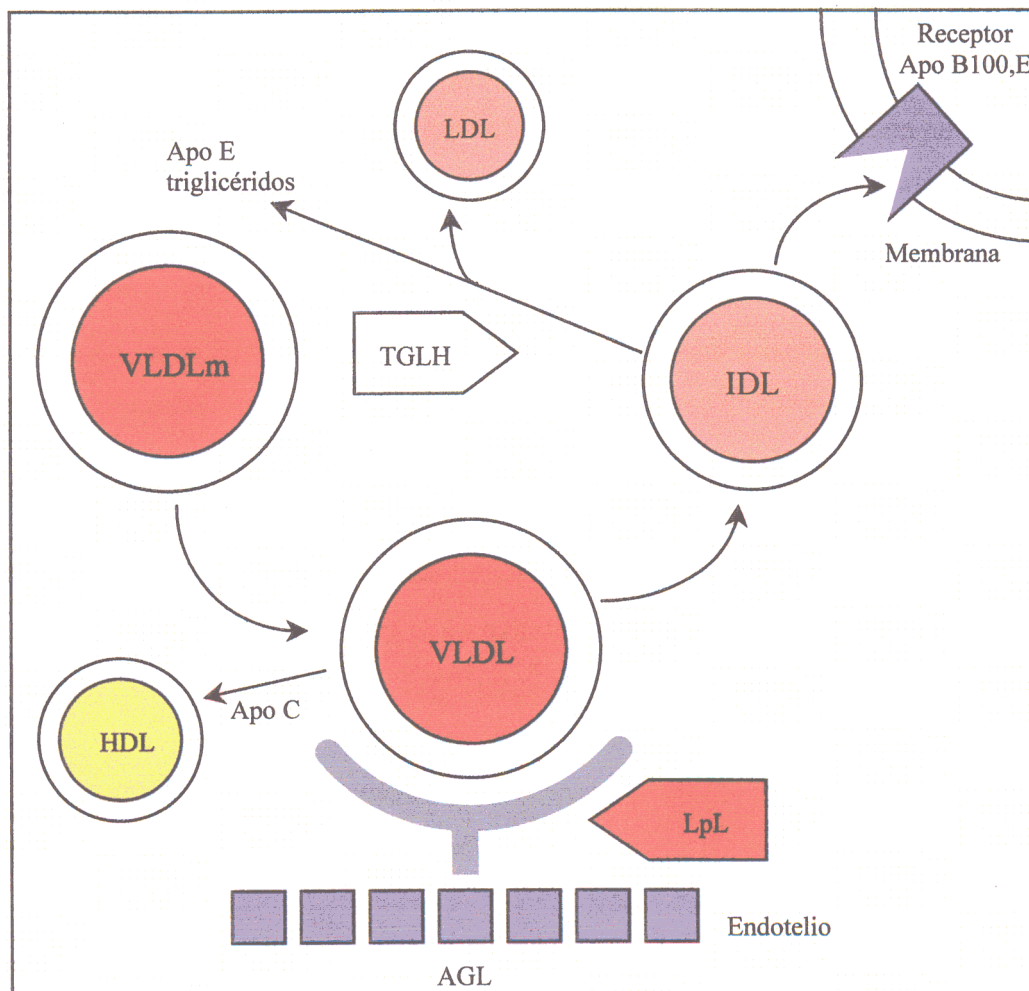


Figura 2. Metabolismo de las VLDL e IDL.

Las VLDL en el plasma, de modo similar a los quilomicrones, deben sufrir un proceso de maduración con el fin de adquirir el contenido necesario de apo CII para poder ser un posible sustrato de la LPL. Igualmente, en este proceso interviene la fracción HDL, responsable de aportar esta apolipoproteína (Chajek y Eisenberg, 1978), además de intervenir en la esterificación del colesterol libre transportado por las VLDL (Nestel y col., 1979). Este proceso ocurre por un intercambio de colesterol libre y colesterol esterificado participando el enzima lecitín-colesterol-acil-transferasa, el “complejo de transferencia de ésteres de colesterol” (CETP) (Ha y col., 1981) y la “proteína transportadora de triglicéridos” (Rajaram y col., 1980). Las VLDL sufren la acción de la LPL mediada por la apo CII perdiendo así la mayoría de sus triglicéridos y el exceso de material de superficie es transferido a las HDL. Las partículas resultantes de este proceso contienen apo E y apo B100 como apolipoproteínas, triglicéridos en cantidades reducidas y se denominan *lipoproteínas de densidad intermedia* o IDL.

Las IDL pueden seguir dos vías diferentes. Una parte de ellas es captada por el hígado a través del receptor apo B100,E de Goldstein y Brown, que reconoce su apo E (Brown y col., 1983); el resto de las IDL se transforman en LDL en un proceso que, si bien no está perfectamente definido, implica la pérdida de los triglicéridos residuales de la partícula y de la apo E. En este proceso desempeña un importante papel una TGLH (Nozaki y col., 1986). Así, las IDL se convierten en LDL que transportan ésteres de colesterol y tienen apo B100 como única apolipoproteína.

#### **1.1.2.2. Metabolismo de las LDL**

Las LDL son las lipoproteínas encargadas de abastecer de colesterol a los distintos tejidos (Parks y Bullock, 1987), para lo cual deben ser internalizadas en las células mediante un mecanismo receptor dependiente a cargo del receptor apo B100,E (Brown y col., 1976; Dietschy y col., 1993) o mediante pinocitosis (Anderson y col., 1976).

El receptor apo B100,E, clásico de Goldstein y Brown, es una glicoproteína de membrana sintetizada en los ribosomas unidos al retículo endoplasmático celular y glicosilada a continuación en el aparato de Golgi y que, en su forma madura, presenta los siguientes cinco dominios (Yamamoto y col., 1984).

- Dominio de unión al ligando (292 aminoácidos al extremo N-terminal): es muy rico en cisteínas y presenta un plegamiento estructural muy estable gracias a la existencia de varios puentes disulfuro. Debido a este plegamiento dispone de una distribución de carga superficial negativa muy definida que es responsable de la interacción específica con la apo B100 (también con la apo E) que presenta una distribución de carga positiva complementaria.
- Dominio homólogo al factor de crecimiento epidemiológico (400 aminoácidos siguientes): facilita estéricamente el acceso del ligando al receptor, y además parece desempeñar un importante papel en la disociación del complejo ligando-receptor dependiente de pH, así como en la unión de cationes divalentes.
- Dominio glicosilado (58 residuos): presenta un alto grado de glicosilación, ya que es muy rico en serina y treonina. Su única función es servir como “soporte” para aumentar la protusión del dominio de unión al espacio extracelular accesibilizándolo a la LDL.



- Dominio de transmembrana (22-25 residuos): se encarga de anclar al receptor en la membrana y, en consecuencia, está inmerso en la misma, por lo que sus aminoácidos son de naturaleza hidrofóbica.
- Dominio citoplásmico (50 residuos en el extremo C-terminal): es responsable del desplazamiento del receptor por la membrana hacia zonas especializadas de la misma y de la interacción con la proteína (clatrina) que las recubre.

Este receptor tiene la función de internalizar las LDL en las células mediante un mecanismo perfectamente regulado para impedir la sobrecarga celular de colesterol (Brown y col., 1986). Dicho mecanismo consta de las siguientes fases (Figura 3):

**I. Internalización de las LDL:** los receptores están insertados en la membrana y se desplazan a su través y entran en contacto con una proteína específica: la denominada clatrina. Esta proteína, relacionada con la parte citoplasmática de la membrana celular y con el citoesqueleto, concentra los receptores de LDL en zonas de la membrana plasmática que reciben el nombre de hoyos recubiertos (Goldstein y col., 1979).

Estas zonas forman rápidamente invaginaciones que progresan hasta formar una vesícula endocítica recubierta de clatrina. Este proceso se produce independientemente de que la LDL se haya unido o no al receptor; si la unión se ha producido, el complejo LDL-receptor se internaliza en su conjunto.

**II. Hidrólisis de las LDL:** la disociación del ligando y el receptor se produce como consecuencia, de que la vesícula endocítica pierde rápidamente su cubierta de clatrina y comienzan a actuar bombas de  $H^+$  que generan una caída de pH en el interior. A partir de este momento ligando y receptor siguen rutas diferentes, la LDL es sometida a la digestión lisosomal (Goldstein y col., 1975), mientras que el receptor es reciclado a la membrana plasmática (Davis y col., 1987), donde se inicia un nuevo proceso de endocitosis.

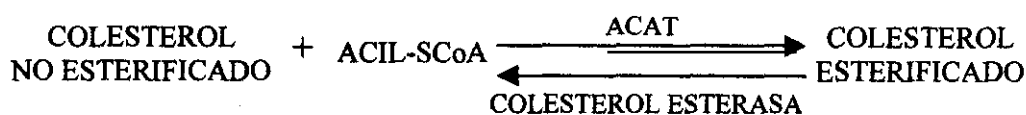
La apo B100 de la LDL es degradada a aminoácidos mientras el colesterol esterificado de la partícula es hidrolizado mediante la colesterol-esterasa lisosomal, liberando el colesterol libre que se integra en el reservorio celular de colesterol (Goldstein y col., 1975).

**III. Regulación del contenido celular de colesterol:** el colesterol procedente de las LDL lo utiliza la célula para realizar sus funciones en la medida en que lo necesita, mientras que el exceso de colesterol, que no ha sido utilizado, activa una serie de mecanismos destinados a evitar una sobrecarga celular. Estas vías metabólicas de control son las siguientes:

**III.1. Disminución de la síntesis intracelular de colesterol:** el colesterol inhibe la HMG CoA reductasa, enzima limitante de la ruta sintética de colesterol, produciéndose una disminución de la velocidad de síntesis del enzima. Esta acción inhibidora puede ser realizada también por algunos esteroides oxidados de forma incluso más potente.

**III.2. Disminución del aporte extracelular de colesterol:** el colesterol inhibe a nivel de la transcripción la síntesis de los receptores LDL, ya que impide la unión de algunas proteínas específicas a la zona promotora del gen del receptor y, en consecuencia, imposibilita su expresión. Esta misma acción es ejercida por algunos ácidos grasos dietarios (Dietschy, 1998). De esta forma el número de receptores que presenta la célula es menor y por tanto la captación celular de colesterol disminuye.

**III.3. Activación de la acil-colesterol-aciltransferasa (ACAT):** en el hígado existe un equilibrio entre el *pool* de colesterol no esterificado y el *pool* de colesterol esterificado. Este equilibrio está controlado por dos enzimas según la siguiente reacción:



La enzima ACAT esterifica el colesterol permitiendo su almacenamiento en el citoplasma. Parece que la actividad de la enzima aumenta simplemente por un incremento en la cantidad de sustrato disponible.

Mediante la puesta en marcha de estos mecanismos, la entrada de colesterol a la célula está perfectamente regulada sin que puedan producirse acúmulos del mismo. Sin embargo, no todas las LDL entran en las células por este mecanismo, sino que algunos tipos celulares presentan una vía de acceso no regulada mediada por un receptor de membrana distinto al anterior, que se denomina receptor *scavenger* (Brown y col., 1990). Posteriormente

trataremos con más detalle la captación de LDL modificadas y su implicación en el desarrollo de la aterosclerosis.

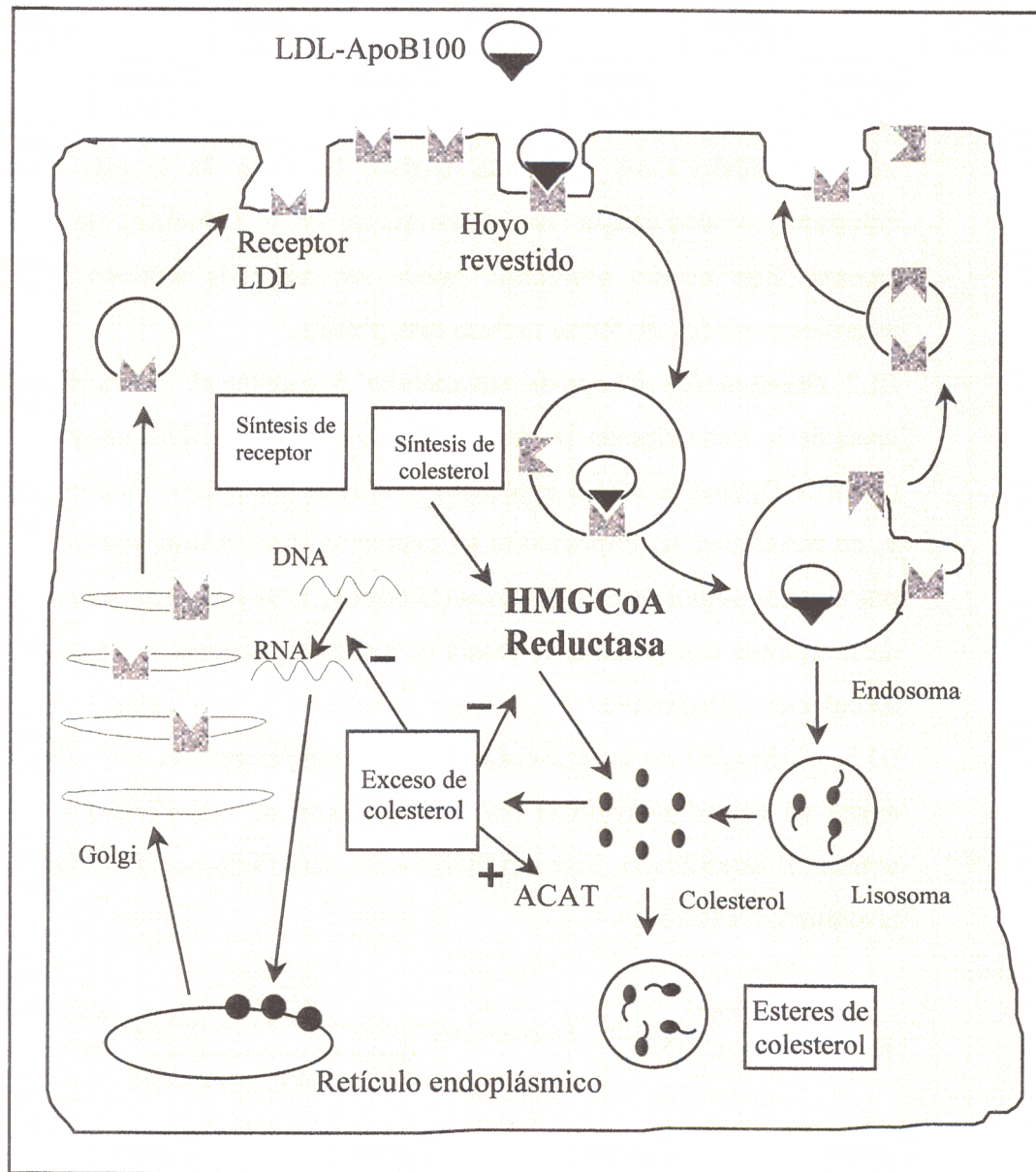
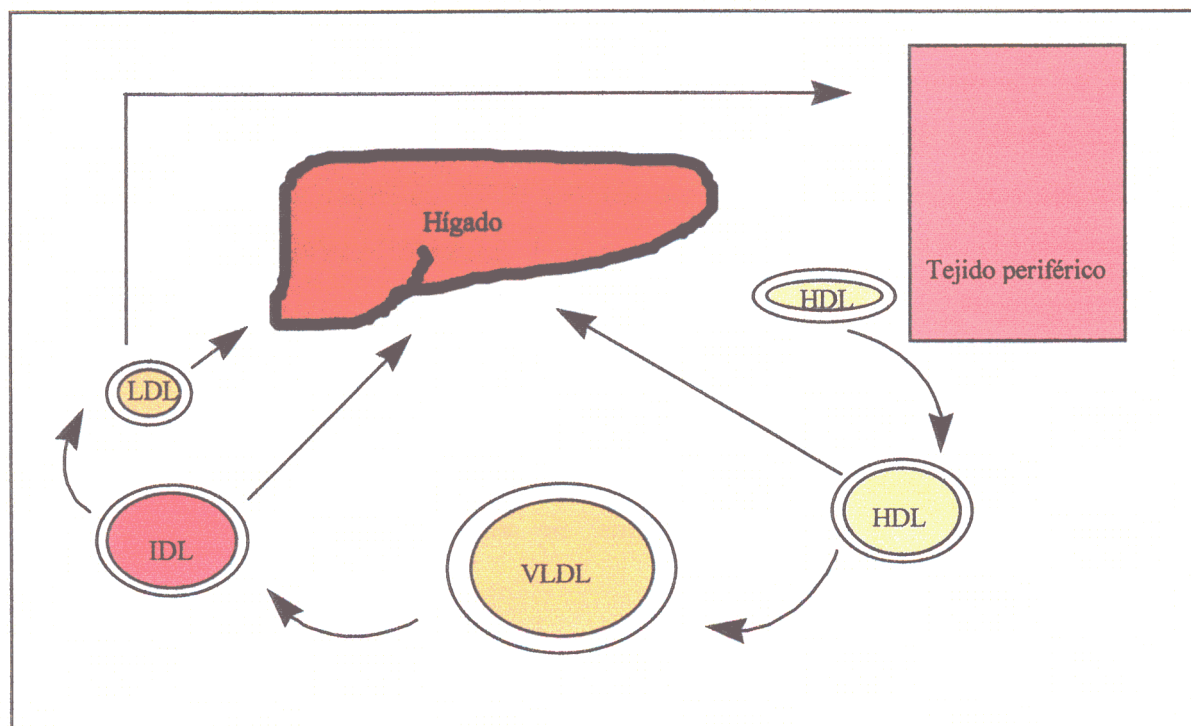


Figura 3. Internalización de la LDL a cargo del receptor apo B100,E.

### 1.1.3. Transporte reverso de lípidos

El organismo no dispone de ningún sistema enzimático capaz de degradar la molécula de colesterol y virtualmente no se acumulan esteroides en los tejidos extrahepáticos. Por lo tanto, la eliminación efectiva del exceso de colesterol se realiza fundamentalmente en el hígado gracias a las HDL (Figura 4). Estas partículas constituyen un grupo muy heterogéneo

aunque tienen en común el ser las lipoproteínas de menor tamaño y mayor densidad debido a su riqueza en apo, siendo la más abundante la apo AI.



**Figura 4.** Transporte reverso de colesterol.

Las HDL intervienen en el transporte reverso de colesterol (Miller y Miller, 1975; Van Tol, 1989; Johnson y col., 1991; Fielding y col., 1995), transportando el colesterol sobrante desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su degradación y excreción en forma de ácidos biliares. Además, los niveles plasmáticos de HDL están relacionados con el aclaramiento de los triglicéridos del plasma (Kekki, 1980).

Las HDL nacientes (HDLn) son sintetizadas como partículas discoidales ricas en proteínas (apo AI, apo AII, apo C y apo E), fosfolípidos y colesterol libre. Estas partículas se originan a través de la síntesis hepática directa de sus componentes y probablemente también a partir de la reorganización del material de superficie de los quilomicrones y VLDL que tiene lugar como consecuencia de su lipólisis por la LPL. Sin embargo, hay ciertas dudas acerca del mecanismo de formación de esta partícula discoidal. Se ha detectado RNAm de la apo E en estirpes celulares muy diversas, y en cultivos de macrófagos se han aislado complejos apo E-fosfolípidos. Ambos hallazgos alimentan la teoría de que las partículas HDLn podrían formarse en el plasma a través de la unión de los liposomas mencionados con diversas apo (AI, AII, C) de origen hepático o intestinal.

Las HDL<sub>n</sub>, partículas de pequeño tamaño y muy pobres en lípidos no polares, durante su metabolismo se enriquecen en ésteres de colesterol, proveniente de membranas celulares y del interior de algunas células, y de una pequeña cantidad de triglicéridos, además de intercambiar lípidos y apo con otras familias de lipoproteínas. Como consecuencia de estos intercambios van disminuyendo su densidad y tomarán las formas que se han denominado como HDL<sub>3</sub>, HDL<sub>2</sub> y HDL<sub>1</sub> (Nichols y col., 1981).

En las rutas metabólicas descritas por las HDL participan dos enzimas de vital importancia: la LCAT y el sistema de transferencia de lípidos (PTL) (Figura 5):

- La **LCAT**, es una glicoproteína que tras su síntesis hepática circula probablemente unida a las HDL y cuya actividad enzimática es activada por la apo AI. Su función consiste en esterificar el grupo hidroxilo de la molécula de colesterol, transfiriéndole el grupo acilo que se encuentra en la posición 2 de la fosfatidilcolina (Fielding, 1986).
- El **Sistema de transferencia de lípidos**, está compuesto por varios tipos de proteínas, entre las que cabe destacar la PTL-1 y la PTL-II (Tall, 1986).

La PTL-I es una glicoproteína con un plegamiento que forma un microentorno interior muy rico en aminoácidos hidrofóbicos. Actúa intercambiando ésteres de colesterol y triglicéridos entre las distintas lipoproteínas, mediante un mecanismo que depende de la relación ésteres de colesterol/triglicéridos de cada fracción lipoproteica. De esta forma, entre las LDL y las HDL hay un intercambio pero no hay transferencia neta, mientras que sí hay transferencia neta de triglicéridos desde las VLDL a las HDL y de ésteres de colesterol desde las HDL hacia las VLDL.

La PTL-II transfiere fosfolípidos hacia las HDL desde las membranas y las lipoproteínas con apo B (Nicols y col., 1980).

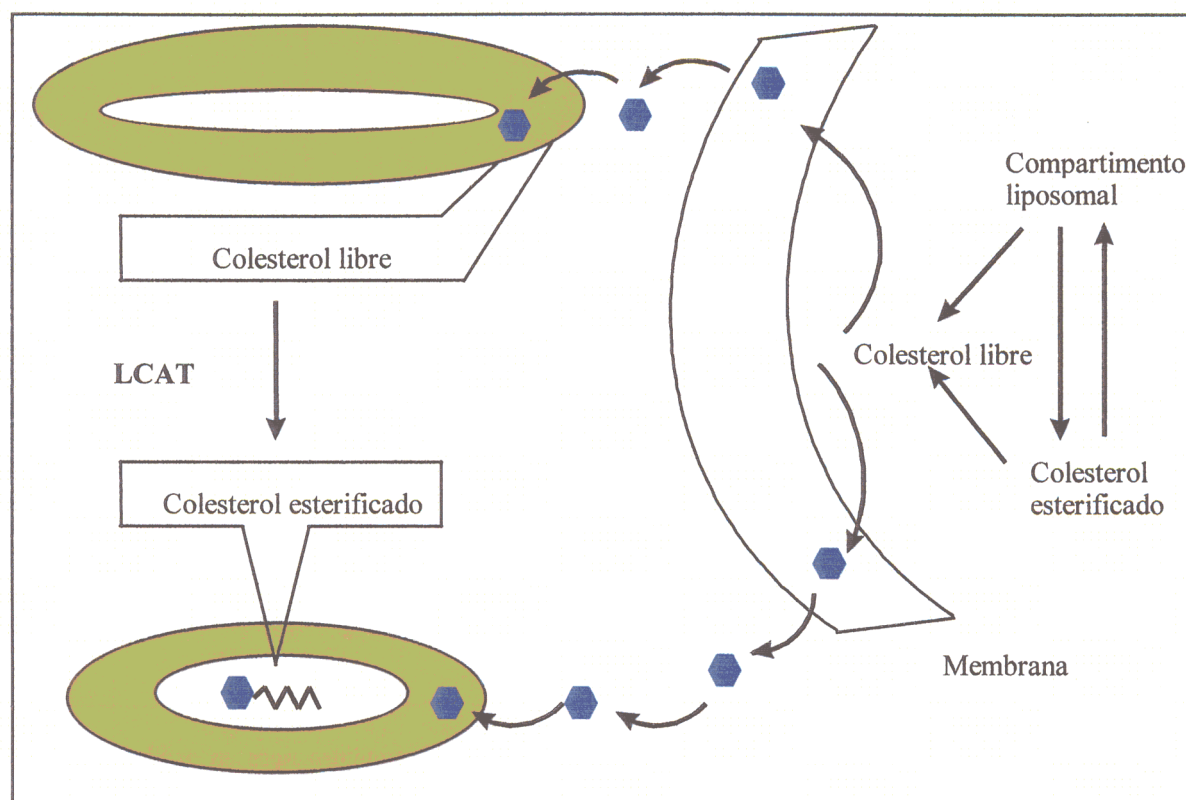
Las HDL, junto con estas dos enzimas, constituyen la vía del transporte reverso del colesterol, que transcurre a través de las siguientes etapas (Nicols y col., 1980). (Figura 5):

**I. Captación y esterificación del exceso de colesterol:** La captación de colesterol celular por parte de las HDL es un proceso que necesita de la colaboración de la LCAT cuya acción da como resultado una molécula de colesterol esterificado, no polar, que debe abandonar su posición en la parte superficial de la HDL, integrándose en el núcleo no polar de las propias



partículas HDL o bien puede ser transferida a otras lipoproteínas mediante el CETP. De esta manera, las HDL a medida que van captando el exceso de colesterol de la membrana celular e intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL y quilomicrones) van integrando ésteres de colesterol en su núcleo no polar, aumentando de volumen, haciéndose esféricas y disminuyendo su densidad.

No está aun claro si el proceso de captación del exceso de colesterol de las membranas celulares por parte de las HDL, transcurre a través de una unión transitoria a un receptor específico o no. Schmitz y col. (1985) demostraron que las HDL que contienen apo AI son capaces de unirse específicamente a receptores presentes en macrófagos y otros tipos de células. Tras su unión a estos receptores, las HDL serían internalizadas mediante un sistema que no interacciona con lisosomas, captando colesterol libre del citoplasma celular, y siendo secretadas de nuevo como una forma de HDL más rica en colesterol. La expresión celular de este tipo de receptores estaría regulada por su contenido en colesterol.

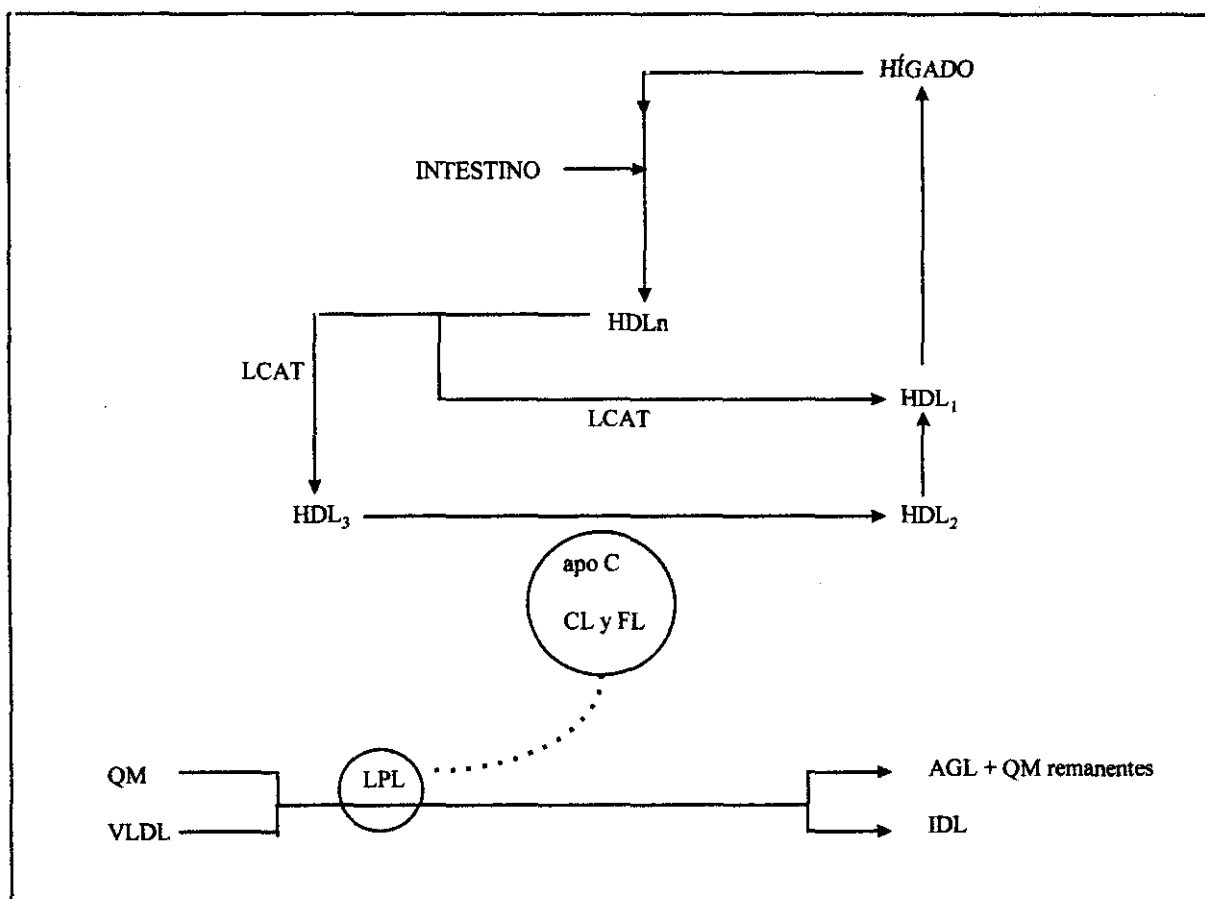


**Figura 5.** Proceso de esterificación del colesterol a través de la acción enzimática de la LCAT.

Tabas y Tall, (1984) sugieren que la captación de colesterol por las HDL es un proceso en parte receptor independiente (fundamentalmente relacionado con las características fisicoquímicas de las partículas HDL), y en parte relacionado con el receptor

de apo AI antes mencionado. De cualquier manera, este proceso de captación (Oram y col., 1981) parece quedar restringido a las formas más densas de HDL (HDL<sub>n</sub> y HDL<sub>3</sub>), mientras que las formas menos densas (HDL<sub>2</sub> y HDL<sub>1</sub>) interaccionarían preferentemente con las otras lipoproteínas.

El hígado e intestino vierten a la circulación plasmática HDL<sub>n</sub>, la LCAT va esterificando el colesterol libre tomando la partícula forma esférica y transformándose en HDL<sub>3</sub>. A medida que las HDL van incorporando apo C, fosfolípidos y colesterol libre, liberados durante la lipólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, van aumentando su tamaño y disminuyendo su densidad, convirtiéndose en HDL<sub>2</sub> (Figura 6).



**Figura 6.** Ciclo de la HDL y relación entre la degradación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y la conversión de HDL<sub>3</sub> en HDL<sub>2</sub>. (CL: Colesterol libre; FL: Fosfolípidos).

La correlación positiva existente entre la actividad de la LPL y la concentración de HDL<sub>2</sub> y HDL total (Nikkila y col., 1978), indica que la velocidad de la lipólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos es el determinante principal de la concentración plasmática de HDL<sub>2</sub> y HDL total.

Las HDL<sub>3</sub> actúan también como aceptores de colesterol libre de las membranas celulares de los tejidos periféricos, permitiendo el transporte de colesterol desde estos tejidos hasta el hígado para su eliminación.

La LCAT contribuye a la conversión de HDL<sub>3</sub> en HDL<sub>2</sub> al ir esterificando el colesterol libre. Las HDL<sub>2</sub> tienen muy baja afinidad como aceptores del colesterol de los tejidos a diferencia de las HDL<sub>3</sub>. El catabolismo final de las HDL como HDL<sub>2</sub>, se realiza principalmente en el hígado mediante su transformación en ácidos biliares, con la intervención de la TGLH (Shirai y col., 1981). Se ha propuesto que la función fisiológica de este enzima es la degradación de los triglicéridos de las HDL<sub>2</sub> en el hígado (Nikkila y col., 1987b).

La concentración plasmática de HDL está regulada por la velocidad de entrada al plasma de HDL<sub>n</sub> procedentes del hígado, la actividad de LPL en los capilares periféricos y la actividad de la TGLH.

## **II. Captación del colesterol por el hígado:** Puede realizarse por dos mecanismos:

- Mecanismo directo: Finalmente, las HDL cargadas de colesterol (HDL<sub>2</sub> y HDL<sub>1</sub>) serían eliminadas de la circulación por el hígado en un proceso que parece ser receptor dependiente. Se han detectado proteínas que parecen unir HDL de modo específico (Schmitz y col., 1985), sin embargo, no está claro si este proceso de eliminación se realiza por reconocimiento de la apo E o depende de receptores hepáticos específicos para apo AI (Rifici y Elder, 1984).
- Mecanismo indirecto: El colesterol esterificado de las HDL es transferido por la PTL-I principalmente a las VLDL, que continúan con sus rutas metabólicas hasta convertirse en IDL y, en su caso, en LDL. Tanto las IDL como las LDL son captadas de forma importante por el hígado (Pape y col., 1991; Tall, 1993; Fielding y col., 1995).

En cualquiera de los dos casos el colesterol de las HDL o, al menos una gran parte de él, completa el transporte centrípeto hacia el hígado, donde se elimina fundamentalmente a través de la vía biliar. En resumen, el hígado es el mayor lugar de catabolismo del colesterol esterificado y de los fosfolípidos de las HDL y otras lipoproteínas (Stein y col., 1983).

### **1.1.4. Lipoproteína(a): bioquímica, metabolismo y concentraciones plasmáticas**



## 1.1.4.1. Bioquímica de la Lp(a)

Berg en 1963 identificó la lipoproteína(a) o Lp(a) en plasma humano al presentar determinantes antigénicos diferentes del resto de lipoproteínas (Berg, 1983). La Lp(a) es una partícula lipoproteica de composición muy similar a las LDL. Ambas están constituidas por un núcleo rico en ésteres de colesterol y fosfolípidos y de una apo B100 que contiene un sitio de unión para los receptores de LDL. La diferencia esencial entre las partículas de LDL y de Lp(a) es la presencia, en esta última, de una glicoproteína específica, denominada apo(a), unida por puentes disulfuro a la apo B100 de la lipoproteína (Sommer y col., 1991). Como la apo B100 rodea y penetra en el núcleo lipídico de las LDL, la apo(a) estará extendida en el medio acuoso (Phillips y col., 1993). En el cuadro 1 se muestran algunas de las características físicas y químicas de las Lp(a) en comparación con las LDL del plasma humano. Por ultracentrifugación las Lp(a) aparecen entre las LDL y las HDL<sub>2</sub>, en el rango de densidad comprendido entre 1,040 y 1,110 g/mL (Alvarez y col., 1993).

	Lp(a)	LDL
Densidad (Kg/L)	1,04-1,11	1,019-1,063
Masa partícula (d)	$3-4 \times 10^6$	$2-3 \times 10^6$
Diámetro (nm)	21-28	18-25
Movilidad electroforética	pre- $\beta$	$\beta$
Proteína	Apo B100 + apo(a)	apo B100
COMPOSICIÓN (%):		
Proteína	35	18
Colesterol esterificado	30	41
Colesterol libre	7	9
Triglicérido	7	6
Fosfolípido	21	26

**Cuadro 1.** Características de las Lp(a) y las LDL en humanos. Tomado de Lasunción y col. (1994).

Al realizar una electroforesis zonal en gel de agarosa, las Lp(a) presentan movilidad pre- $\beta$ , de manera que en una muestra que contenga VLDL (plasma total) no se diferencian ambas lipoproteínas, pero si se trata de plasma libre de VLDL ( $\rho_{20} > 1,006$  g/mL), aparecerá una banda en la zona pre- $\beta$  que corresponde a las Lp(a). Precisamente por su comportamiento en electroforesis zonal, esta partícula recibió también el nombre de lipoproteína pre- $\beta$  hundida “*sinking pre- $\beta$* ” (Albers y col., 1975), que hace referencia al

hecho de que queda enmascarada por las VLDL en el plasma entero. Ya que dicha proteína presenta un elevado peso molecular y está altamente glicosilada (28% de su peso) con numerosos restos de ácido N-acetilneuramínico (Gaubatz y col., 1983), las Lp(a) tienen mayor densidad, superior tamaño de partícula y mayor movilidad electroforética que las LDL.

El gen codificador de la apo(a) se localiza en el brazo largo del cromosoma 6 humano, adyacente al del plasminógeno (Frank y col., 1988). Eaton y col. (1987) estudiaron la secuencia de aminoácidos y de bases del DNAC, lo que desveló la alta homología entre la apo(a) y el plasminógeno (Cuadro 2). De hecho, los genes que codifican ambas proteínas proceden de un gen ancestral común, del cual se diversificaron hace más de 80 millones de años (Ikeo y col., 1991). Debido a este parecido estructural, la apo(a) en alta concentración es capaz de interferir en la fibrinólisis aumentando el riesgo trombogénico.

	Apo(a)	Plasminógeno	Apo B100
Peso molecular ( $10^3$ d)	400-800*	92	548
Nº aminoácidos	3600-7200*	790	4529
Solubilidad en agua	+	+	-
Hidratos de carbono (%)	28	2	9
Cromosoma	6	6	2
Kringle 1	-	1	-
Kringle 2	-	1	-
Kringle 3	-	1	-
Kringle 4	13-37	1	-
Kringle 5	1	1	-
Triada catalítica	+ (Ser-His-Asp)	+ (Serp-His-Asp)	-
Sitio de activación	- (Ser-Ile)	+ (Arg-Val)	-

**Cuadro 2.** Características estructurales de la apo(a), el plasminógeno y la apo B100. \*Datos orientativos. Tomado de Lasunción y col. (1994).

La vida media de la Lp(a) es de unos 2 días aproximadamente y su tasa de síntesis es muy variable, oscilando de 0,2 a 10 mg/kg/día (Krempler y col., 1980). La Lp(a) tiene origen hepático, hecho confirmado por Kraft y col. (1989) al observar el cambio al fenotipo de la apo(a) del donante en los pacientes receptores de un trasplante hepático. Por otra parte, Tomlinson y col. (1989) identificaron RNAm de la apo(a) en el testículo y en el cerebro de monos *Rhesus*, aunque por el momento se desconoce el significado de este hecho y si las células de estos últimos tejidos son capaces de sintetizar apo(a). Esta proteína, soluble en agua a diferencia de la apo B100, presenta un elevado polimorfismo genético, habiéndose

reconocido hasta 34 alelos que codifican proteínas de muy variado peso molecular, desde 400 hasta 800 kd aproximadamente, aparte del alelo nulo (Gaubatz y col., 1990; Utermann y col., 1987; Lackner y col., 1993). La apo(a), prácticamente no se detecta libre en el plasma, sino asociada a la apo B100, constituyendo la Lp(a) (Fless y col., 1990).

La Lp(a) es una población heterogénea de partículas que presentan distintos tamaños y densidades debido a diferencias en su contenido en lípidos, pero también a la estequiometría entre la apo(a) y la apo B100 (ya que no está descartado que pueda haber varias moléculas de apo(a) por cada apo B100), el tipo de apo(a) de que se trate y el contenido y tipo de hidratos de carbono (Alvarez y col., 1993). Es interesante el hecho observado por Kraft y col. (1992), quienes descubrieron que mientras los homocigóticos para una isoforma de apo(a) presentan una población unimodal de partículas de Lp(a), en los heterocigóticos se detectan dos poblaciones, cada una portando un tipo de apo(a), y que se diferencian por el rango de densidades en el que se separan. A este respecto, las partículas con apo(a) de menor tamaño son menos densas que las que llevan apo(a) de gran tamaño y esto determina que la partición de la Lp(a) entre LDL y HDL cuando se separa por ultracentrifugación varíe mucho según el fenotipo y los niveles de Lp(a) del individuo de que se trate (Alvarez y col., 1993). Al margen de esa variedad, una partícula promedio de Lp(a) se compone de un tercio de proteína, un tercio de colesterol y el otro tercio del resto de componentes (Morrisett y col., 1987).

Aunque la mayor parte de las partículas Lp(a) del plasma son ricas en colesterol esterificado, como las LDL, también se han detectado otras que son ricas en triglicéridos, especialmente en el estado posprandial (Bersot y col., 1986; Pfaffinger y col., 1991). Por otra parte, varios investigadores (Alvarez y col., 1993; Guo y col., 1991; Selinger y col., 1993), han detectado cierta Lp(a) en el rango de densidad de las VLDL en individuos hipertrigliceridémicos con elevadas concentraciones plasmáticas de Lp(a), lo que sugiere que en esas circunstancias la apo(a) puede asociarse con la apo B100 de las VLDL y no sólo con las LDL.

#### 1.1.4.2. *Metabolismo de la Lp(a)*

La apo(a) es de síntesis hepática y su secreción se realiza de forma independiente de la apo B100, de manera que la formación del puente disulfuro entre la apo(a) y la apo B100 de las LDL se realiza extracelularmente (Koschinsky y col., 1993). No se conoce con precisión a través de qué mecanismos se elimina la Lp(a) del plasma. Una posibilidad es que

la apo(a) se disocie de la apo B100, quedando una LDL que se metabolizaría normalmente, pero el lugar de degradación última de la apo(a) se desconoce. Se ha demostrado la unión de la Lp(a) a receptores B/E, pero su afinidad es menor que la de las LDL (Krempler y col., 1983), por lo que esta vía no parece ser importante. De hecho, Knight y col. (1991) observaron que el tiempo de residencia de la Lp(a) en el plasma de pacientes con deficiencia de este receptor es similar que en controles. Por su parte, el receptor *scavenger* propio del macrófago reconoce con cierta afinidad la Lp(a), particularmente aquellas partículas oxidadas (Sattler y col., 1991) o modificadas por glicosaminglicanos (Bihari-Varga y col., 1988), pero tampoco esta vía puede dar cuenta de la degradación de la Lp(a) del plasma. Como han sugerido Brown y Goldstein (1987), la Lp(a) podría representar un mecanismo para transportar LDL a las zonas de reparación de la pared arterial, para aportar colesterol a los fibroblastos y permitir así su proliferación; cabe la posibilidad, entonces, de que allí se disocie la apo(a) y se catabolice por las células de ese entorno.

La concentración de las partículas de Lp(a) ricas en triglicéridos varía rápidamente en el período posprandial y por manipulación dietética (Bersot y col., 1986; Pfaffinger y col., 1991), por lo que parecen tener un catabolismo más acelerado que las ricas en colesterol, pero todavía no se conoce cómo actúan las enzimas lipolíticas del plasma sobre la Lp(a).

#### 1.1.4.3. Concentraciones plasmáticas de Lp(a)

A pesar de la gran similitud estructural de la Lp(a) y las LDL, la concentración plasmática de Lp(a) no se correlaciona con la concentración de las otras lipoproteínas plasmáticas. El principal factor que determina el nivel circulante de Lp(a) es el tamaño del gen de la apo(a) (Boerwinkle y col., 1992): el tamaño de cada alelo varía en función del número de secuencias repetitivas correspondientes al *Kringle* 4 de tipo 2; en total 34 isoformas de apo(a) han sido identificadas por análisis de la proteína (Kamboh y col., 1991) y del DNAC (Lackner y col., 1991). Si el tamaño de la región hipervariable es pequeño y la molécula es corta, en general la concentración plasmática de ésta es baja (Lamon-Fava y col., 1991). En la población adulta de la raza blanca se considera que las repeticiones del *kringle* 4 son responsables de hasta el 70% de las diferencias interindividuales en la concentración de Lp(a) y que otras secuencias en el *locus* que regula la síntesis de apo(a) serían responsables de un 20% en la variabilidad de la concentración plasmática de lipoproteína (Boerwinkle y col., 1992). Sin embargo, esta relación inversa entre tamaño de los alelos de apo(a) y concentración de Lp(a) no siempre se observa (Craig y col., 1995).

En virtud de su movilidad electroforética con respecto a la apo B100, se han identificado distintas isoformas de la apo(a) todas ellas determinadas por alelos codominantes. Las isoformas denominadas B, S1, S2 y probablemente la F de acuerdo con la nomenclatura de Utermann y col. (1987) se asocian a concentraciones elevadas de Lp(a), mientras que los individuos con fenotipos S3 y S4 tienen bajas concentraciones plasmáticas de la misma. La concentración de Lp(a) se relaciona inversamente con el peso molecular de la isoforma (o isoformas, en el heterocigoto) de que se disponga (Gavish y col., 1989; Boerwinkle y col., 1992) y así, los sujetos con isoformas de elevado peso molecular suelen presentar baja concentración plasmática de Lp(a) y viceversa. Esto se debe a que las isoformas de elevado peso molecular se segregan al medio a menor velocidad que las de bajo peso molecular, por su inestabilidad (White y col., 1992). En coherencia con ello, estudios genéticos han demostrado que el polimorfismo genético de la apo(a) en cuanto a tamaño de la proteína determina el 69% de la variación de la concentración plasmática de Lp(a) en la población (Boerwinkle y col., 1992). También se ha descrito que los individuos heterocigotos tienen una concentración plasmática de Lp(a) mayor que los homocigotos (Gaubatz y col., 1990; Abe y col., 1992; Pedro-Botet y col., 1993).

De acuerdo con lo comentado anteriormente y de modo unánime entre los distintos estudios llevados a cabo, la concentración plasmática de Lp(a) presenta una distribución muy sesgada, tanto en mujeres como en varones. La Lp(a) plasmática es muy variable de un individuo a otro (menos de 1 mg hasta más de 1 g/L) y entre las distintas poblaciones (Jungner y col., 1995; Nago y col., 1995). En general, en las diferentes poblaciones estudiadas alrededor del 75% presentan una concentración inferior a 30 mg/dl y la mediana se sitúa en torno a los 12 mg/dl de Lp(a) total (Alvarez y col., 1993; Lasunción y col., 1993). Una distribución similar se observa en otras poblaciones caucásicas (Albers y col., 1975; Utermann y col., 1987), mientras que la raza negroide presenta unos valores superiores (Guyton y col., 1985), aunque en este caso no parecen estar relacionados con el incremento de la aterogénesis (Molitemo y col., 1995).

En cambio, la variabilidad intraindividual de la concentración de Lp(a) es escasa, aun así se puede afirmar que aumenta ligeramente con la edad, hecho más potente en la mujer posmenopáusicas, también aumenta durante el embarazo y por otra parte no parece modificarse sustancialmente por la acción de otros factores ambientales como la dieta, los ácidos grasos w-3 no parecen tener efecto sobre ésta (Eritsland y col., 1995; Hermann y col., 1995), el ejercicio físico, la hipertensión arterial (HTA) ni el tabaquismo, siendo controvertida la influencia sobre la misma de los fármacos hipolipemiantes (Carlson y col.,

1989; Slunga y col., 1992; Barbi y col., 1992; Jenner y col., 1993; Klor y col., 1994; Ramírez y col., 1995). Sin embargo, el nivel de Lp(a) puede aumentar en el curso del síndrome nefrótico (Hong y col., 1995), de reacciones de fase aguda (Wallberg-Jonsson y col., 1995), después de la supresión alcohólica y bajo la influencia de ciertas hormonas (Olivecrona y col., 1995).

## **1.2. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR**

La arterioesclerosis es un problema socio-sanitario de primera magnitud, sus formas de expresión clínica fundamentales: la cardiopatía isquémica, la patología vasculo-cerebral y la arteriopatía periférica constituyen la causa principal de morbimortalidad en la sociedad occidental (Miettinen y col., 1985; American Heart Association, 1989; Anderson y col., 1991; Ross, 1993). España es un país cuya tasa de mortalidad por enfermedades cardiovasculares está entre las más bajas del mundo occidental, aún así más del 40% del total de fallecidos por todas las causas, lo hacen por un proceso de origen cardiovascular (Banegas y col., 1992).

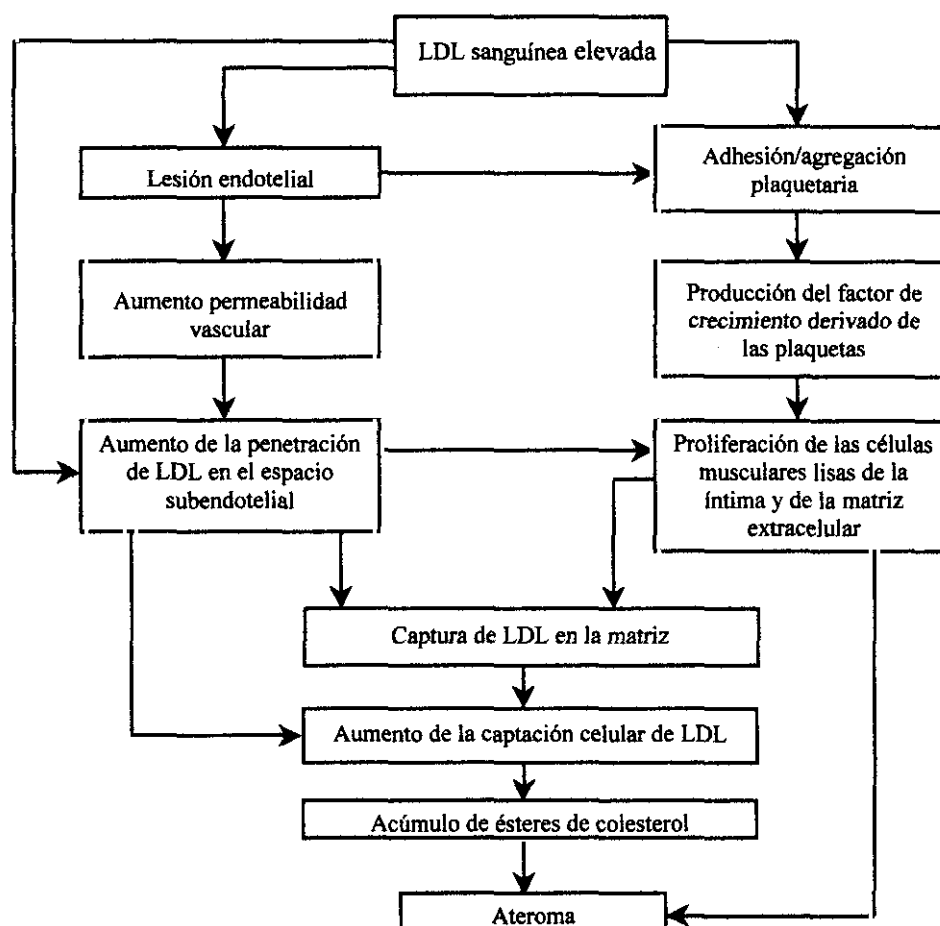
La arterioesclerosis es una afectación del árbol vascular caracterizada por ser un proceso generalizado relacionado muy directamente con la edad, y que se presenta con un aumento difuso del grosor de las capas íntima y media de las arterias, con pérdida de la elasticidad de las mismas. En ocasiones, este proceso tiene lugar de forma más notable, identificándose una lesión típica la *placa de ateroma*. Por tanto, la *aterosclerosis* es una forma de arterioesclerosis definida por este tipo de lesión y responsable, en último lugar, del mayor número de casos de morbilidad y mortalidad cardiovascular.

### **1.2.1. Formación de la placa de ateroma**

La formación de una placa de ateroma tiene un origen multifactorial, estudios recientes han incorporado a las hipótesis clásicas sobre el origen de la aterosclerosis nuevos conceptos, revelando interacciones entre la pared vascular y elementos de la sangre tales como proteínas plasmáticas, prostanoides, lipoproteínas y elementos formes sanguíneos entre otros compuestos (Fuster y col., 1985; Steinberg, 1987; Turpin, 1991; Kramsch, 1995; Lüscher y Noll, 1995; Schwartz y col., 1995) (Figura 7).

El paso previo a la aterosclerosis se produce cuando las LDL se acumulan en el espacio subíntimo de la pared arterial, sobre todo en zonas “estratégicas” del árbol vascular,

como es el caso de ramificaciones y bifurcaciones de la pared vascular.



**Figura 7.** Hipótesis unificada de la aterogénesis que relaciona el aumento de los niveles sanguíneos de lípidos (especialmente LDL-colesterol) con la lesión endotelial. Según Steinberg, (1987).

Tras la acumulación de LDL, los monocitos comienzan a adherirse a las células endoteliales de la subíntima merced a la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de dichas células (ICAM-1, VCAM-1, ELAM), que son reconocidas por las glucoproteínas existentes en la superficie del monocito (GP-90, GP-155, GP-160). También las células endoteliales secretan moléculas que tienen un efecto quimiotáctico sobre los monocitos, entre las que cabe destacar la proteína quimiotáctica de los monocitos o MCP-1. Los monocitos migran y se sitúan por debajo del endotelio, donde modulan su expresión fenotípica y pueden transformarse en macrófagos (MCF), los cuales son capaces de acumular grandes cantidades de lípidos y transformarse en células espumosas que contribuyen a las lesiones de la pared denominadas estrías grasas (Fuster y col., 1985; Curtiss y col., 1987; Otmad y col., 1992; Van Berkel y col., 1995). La habilidad de los macrófagos para cargarse de LDL nativa es muy limitada, porque apenas tienen receptores específicos para estas lipoproteínas. Sin embargo, su riqueza en receptores específicos para LDL modificadas, y su afinidad por esta otra forma de lipoproteína es determinante para adquirir una gran carga lipídica. Además, los

macrófagos no tienen mecanismo de retro-alimentación o feed-back, es decir, pueden “cargarse” de colesterol hasta el extremo de superar su capacidad para esterificarlo, quedando en forma de colesterol libre intracelular, el cuál es tóxico para la célula. Los macrófagos liberan a la íntima metabolitos oxidados, enzimas proteolíticos y factores de crecimiento para las células musculares lisas que contribuyen al desarrollo de la placa de ateroma. Además, los macrófagos enriquecidos con ésteres de colesterol atraen a las células musculares lisas, las cuales pierden su capacidad contráctil, secretan colágeno, mucopolisacáridos, glicoproteínas, elastina y se convierten en el principal componente de la placa aterosclerótica (Camejo y col., 1994; Schwartz y col., 1995).

La permanencia de las lipoproteínas en el espacio subendotelial dependerá del flujo de entrada de dichas lipoproteínas y de su capacidad de resistencia a sufrir modificaciones oxidativas o de otra índole a nivel subendotelial. Una vez que las lipoproteínas se oxidan, se modifica su comportamiento biológico representando un importante papel en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis (Witztum, 1994). Las células endoteliales, las células musculares lisas y los macrófagos provocan la modificación oxidativa de las LDL en el espacio subendotelial, estas LDL oxidadas contribuyen a la aterogénesis mediante varios mecanismos: a) representan un potente factor quimiotáctico para los monocitos, que son atraídos al espacio subíntimo; b) inhiben la migración de los macrófagos y su salida de las lesiones ateroscleróticas; c) los macrófagos atrapados en el espacio subíntimo degradan la LDL oxidada vía receptor scavenger, de esta manera acumulan lípidos y dan lugar a células espumosas de gran tamaño; d) son citotóxicas contribuyendo a la destrucción de la integridad de las células endoteliales; e) alteran las propiedades hemodinámicas de las arterias inhibiendo el efecto del factor de relajación endotelial (EDRF), identificado como el óxido nítrico (NO) y que actúa como vasodilatador (Kalyanaraman y col., 1995; Sevanian y col., 1995) (Figura 8). Es importante resaltar que para la oxidación de las LDL mediada por macrófagos, es necesaria una unión inicial de las lipoproteínas al receptor de las LDL bajo *stress* de oxidación. Esta unión da lugar a la liberación de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) que oxidan extracelularmente a la molécula de LDL (Aviram, 1994).

Las lesiones iniciales son microscópicas y se producen por una proliferación de las células musculares de la capa íntima, al progresar la lesión aparece grasa en las células de la íntima y mas tarde en el espacio extracelular, observándose una serie de estrías grasas, que pueden considerarse como la fase inicial de una placa ateromatosa, que ya son visibles macroscópicamente como una zona con cierto relieve, y de color más amarillento, que resalta sobre la superficie endotelial de la arteria. Estas estrías grasas pueden progresar a placas fibrosas



las cuales están formadas por abundante tejido fibroso debajo del cual existe un núcleo lipídico (Fuster y col., 1985; Kramsch, 1995) y entre la capa celular y el núcleo lipídico es posible encontrar detritus celulares. Las células musculares lisas participan muy activamente en el desarrollo de las lesiones intermedias y avanzadas de la arterioesclerosis, emigrando desde la capa media hasta la capa íntima, proliferando bajo estímulos mitógenos, sufriendo una transformación fenotípica en fibroblastos y, por consiguiente, participando en la formación de tejido conectivo gracias a su capacidad para sintetizar proteínas de las fibras elásticas y proteoglicanos, y además actuando como células macrofágicas en colaboración con los monocitos en la eliminación de las lipoproteínas depositadas en el espacio subendotelial.

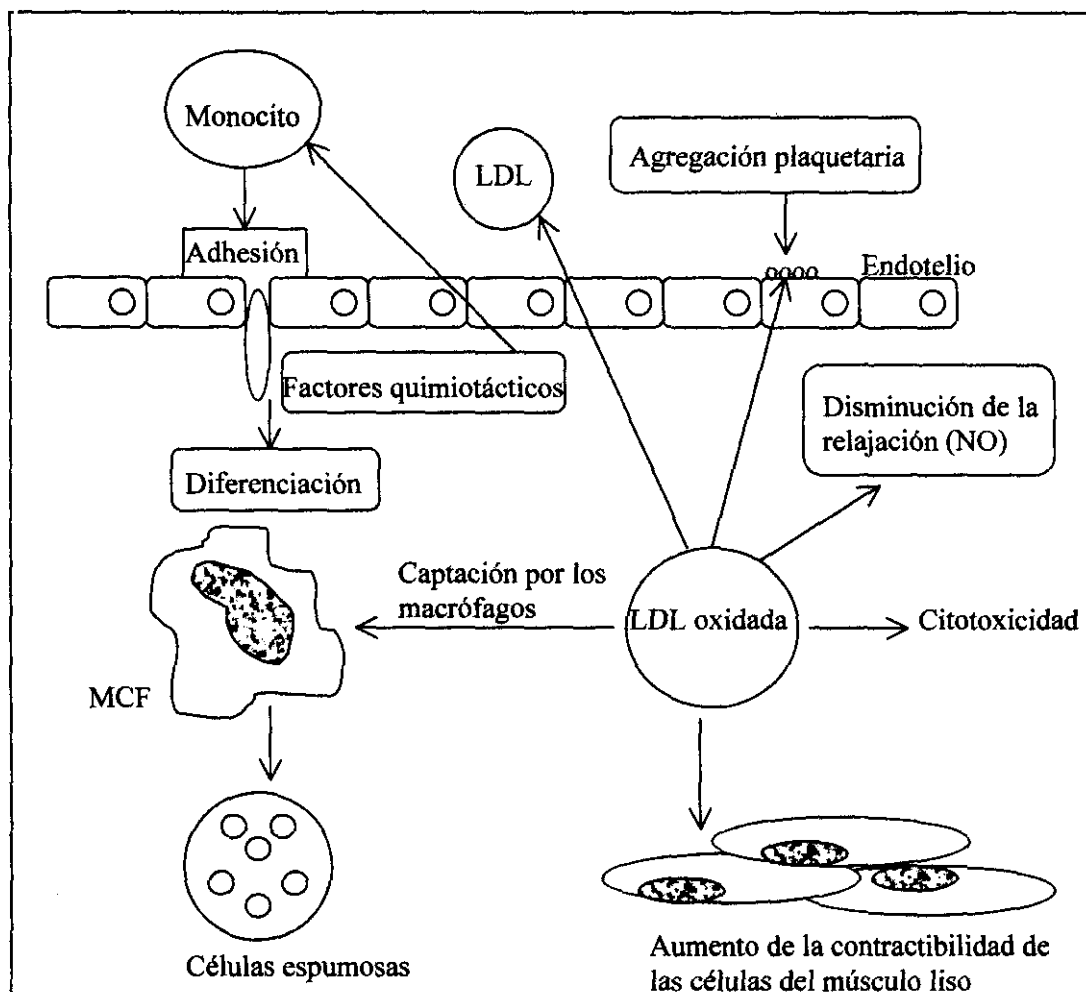


Figura 8. Efectos de las LDL oxidadas sobre las células arteriales. Tomado de Bruckdorfer (1990).

A raíz de estas lesiones se produce acumulación de plaquetas y de células blancas, como polimorfonucleares, linfocitos y monocitos, en la superficie de las células endoteliales de las zonas dañadas. La formación de agregados plaquetarios produce lesiones en dichos focos debido a una serie de sustancias secretadas por las plaquetas, como serotonina (5-HT),

adrenalina, difosfato de adenosina (ADP), o proteínas catiónicas que aumentan la permeabilidad vascular, o como tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) que produce vasoconstricción. También las células blancas liberan sustancias que alteran la permeabilidad vascular (Gertz, 1979; Lüscher y Noll, 1995) y factores de índole inmunitaria como interleuquinas (Webb y col., 1987; Rowlands y col., 1993) que aseguran la permanencia de macrófagos y que condicionan la llegada de otras células blancas a la zona dañada de la arteria.

La formación de tejido fibroso es decisiva en el desarrollo de la placa ateromatosa. Dicho tejido está formado por colágeno, elastina, proteoglicanos y glucoproteínas. El constituyente principal es el colágeno; la elastina es anormal, distinta a la de las arterias normales y en menor concentración; los proteoglicanos son importantes en el proceso de unión de los lípidos a la pared arterial, y las glucoproteínas participan en la interacción del colágeno con las fibras elásticas (Fuster y col., 1985; Camejo y col., 1994; David y col., 1995; Schwartz y col., 1995). Se forma así una placa fibrosa que puede complicarse y desembocar en el desarrollo de trombosis, ulceración, calcificación o formación de aneurisma (Turpin, 1991).

### **1.2.2. Papel del endotelio en la aterosclerosis**

El endotelio modula la función de los vasos en función de su estado metabólico y de los estímulos que pueda estar recibiendo desde el espacio subendotelial. De esta manera las células endoteliales, en respuesta a mecanismos y señales humorales, pueden liberar sustancias moduladoras de: la contracción y proliferación del músculo liso de la pared vascular, la adhesión y agregación plaquetar, la coagulación y la adhesión de monocitos. Entre estas sustancias existen una serie de factores que producen relajación en el endotelio, tales como el NO, la prostaciclina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF), mientras otras hacen lo contrario, produciendo contracción, éstas son: la endotelina, los prostanoïdes vasoconstrictores como TXA<sub>2</sub> y la prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) (Lüscher y Noll, 1995). Bajo condiciones fisiológicas el endotelio ejerce efectos vasculares protectores tales como prevenir la adhesión de células sanguíneas, producir vasodilatación e inhibir la proliferación de células musculares lisas, pero un endotelio dañado media procesos tales como vasoconstricción, adhesión de plaquetas y monocitos y proliferación de células del músculo liso vascular, todos estos eventos contribuyen al desarrollo de aterosclerosis.

Neurotransmisores, hormonas, sustancias derivadas de las plaquetas y la trombina pueden provocar relajación dependiente del endotelio mediante la liberación de NO (Lüscher y col., 1990; Furchgott y col., 1980). El NO, previamente llamado factor de relajación derivado

del endotelio (Furchgott y col., 1980), es una molécula inestable con una vida media de pocos segundos y que se forma a partir de la L-arginina gracias a la NO sintetasa endotelial (NOSe). Existen otras formas isoméricas de la NO sintetasa en plaquetas, macrófagos, células del músculo liso de la pared vascular y en el cerebro (Palmer y col., 1987; Bredt y col., 1990). El NO causa relajación en las células del músculo liso a través de la formación de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) por medio de la enzima guanilil ciclasa (Rapoport y col., 1983). Radomski y col., (1987) y Radomski y col., (1987b) encontraron en plaquetas, que el aumento de GMPc intracelular estaba asociado con una menor adhesión y agregación plaquetar. Por otro lado, las plaquetas pueden sintetizar NO y regular por si mismas su agregabilidad (Radomski y col., 1990). También las plaquetas liberan sustancias tales como ADP y trifosfato de adenosina (ATP) y 5-HT que activan la liberación de NO y PGI<sub>2</sub> a partir del endotelio (Cohen y col., 1983; Yang y col., 1991). Además la trombina, el principal enzima de la cascada de la coagulación, estimula la formación endotelial de NO (Lüscher y col., 1988). Sin embargo, es interesante comentar que el papel del NO es muy distinto según actúe sobre el endotelio sano o disfuncionante (Figura 9); en el primero induce vasodilatación, en el segundo vasoconstricción a través de la acción del TXA<sub>2</sub> de las plaquetas. Parece que estas diferencias estarían en relación con el origen del NO. Si se produce a partir de la NOSe, presente en pequeñas cantidades dentro de las células, tendría un efecto antiagregante, en tanto que si su síntesis procede de la NO sintasa inducible el efecto sería opuesto (Cuadro 3).

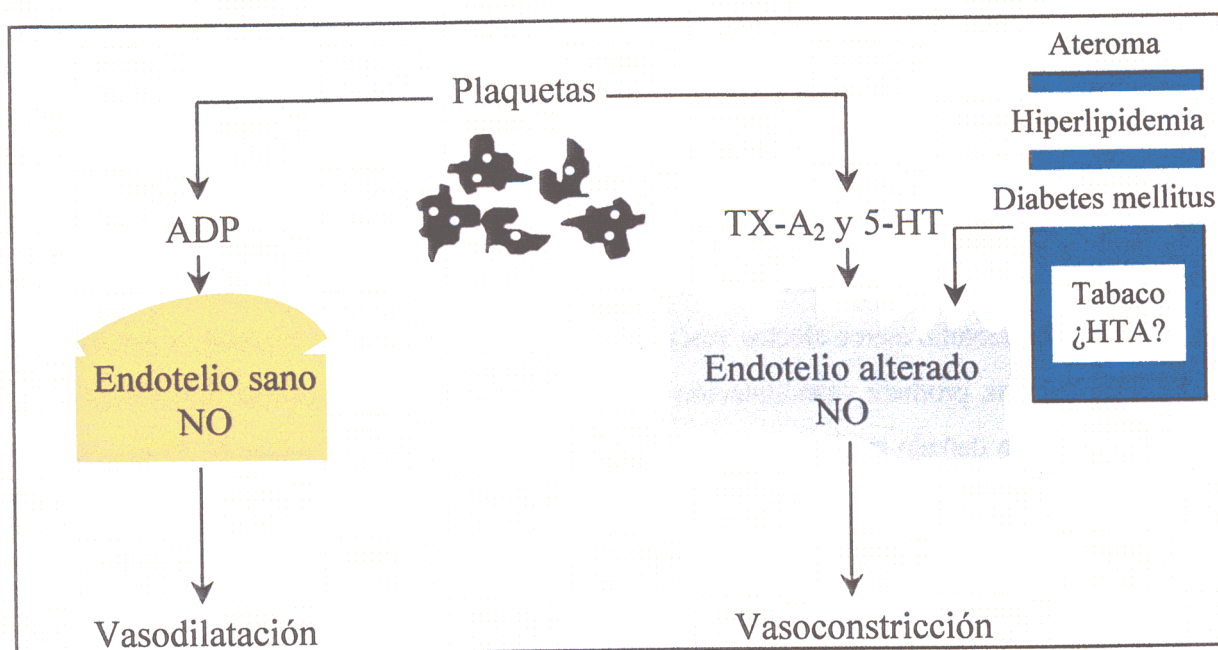


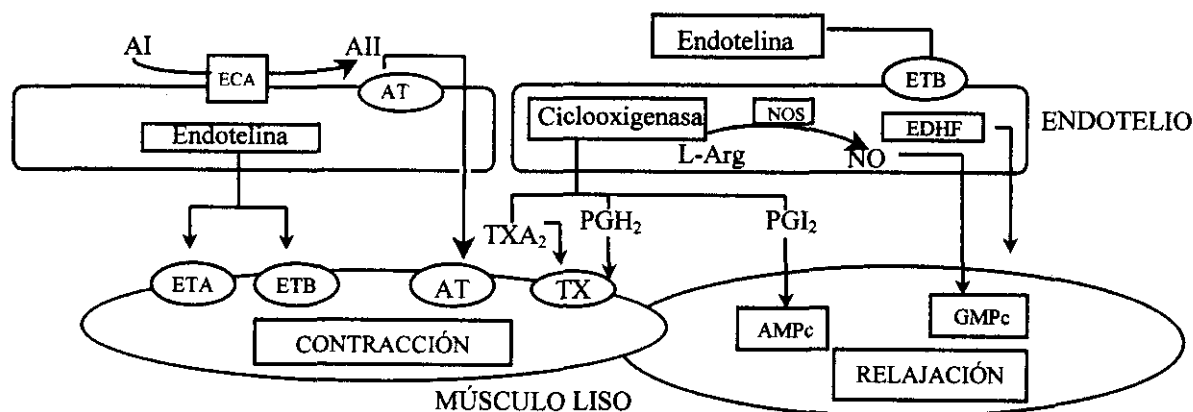
Figura 9. Interacción de las plaquetas y el endotelio mediada por el NO. Adaptada de Millán y col. (1997).

ALGUNAS DIFERENCIAS ENTRE LAS NO-SINTASAS (a partir de L-arginina dan NO y L-cirtulina)		
	NO-sintasa constitutiva	NO-sintasa inducible
Necesita $\text{Ca}^{2+}$ y calmodulina	Sí	No
Se inhibe con:	Calcioantagonistas Inhibidores de la calmodulina	Aminoguanidina Glucocorticoides
Produce NO en cantidades	Muy pequeñas, constantes	Variables, nada-mucho
Se induce con:	Acetilcolina, ADP, bradiquinina	Citokinas: IL-1, TNF- $\alpha$ , endotoxinas, Interferón- $\gamma$
Función	¿Homeostasis endotelial?	¿Inflamatorias, inmunológicas?
Localización	Células endoteliales	Células endoteliales y musculares lisas

**Cuadro 3.** Diferencias entre las NO-sintasas. Adaptado de Millán y col. (1997).

La  $\text{PGI}_2$  es una sustancia vasodilatadora producida por el endotelio a partir de los fosfolípidos de su membrana por la vía del ácido araquidónico, y debe su efecto al aumento del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) (Moncada y Vane, 1979). En las plaquetas, el NO y la  $\text{PGI}_2$  actúan de forma sinérgica inhibiendo la agregación plaquetar (Radomski y col., 1987c), mientras que el EDHF produce una hiperpolarización en las células del músculo liso de la pared vascular que conduce a la relajación por una vía independiente del NO (Vanhoutte, 1987).

Los factores contráctiles derivados del endotelio son la endotelina, los prostanoideos vasoconstrictores como  $\text{TXA}_2$  y la  $\text{PGH}_2$  y el sistema renina-angiotensina (Lüscher y Noll, 1995) (Figura 10).



**Figura 10.** Sustancias vasoactivas derivadas del endotelio. AI: angiotensina I; AII: angiotensina II; ECA: enzima convertidor de angiotensina; AT: receptor para angiotensina I; L-Arg: L-arginina; NO: óxido nítrico; NOS: óxido nítrico sintetasa; EDHF: factor hiperpolarizante derivado del endotelio; ETA, ETB: receptores para endotelina;  $\text{TXA}_2$ : tromboxano A<sub>2</sub>;  $\text{PGH}_2$ : prostaglandina H<sub>2</sub>;  $\text{PGI}_2$ : prostaciclina I<sub>2</sub>; TX: receptor para  $\text{TXA}_2$ / $\text{PGH}_2$ ; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; GMPC: monofosfato de guanosina cíclico. Adaptado de Lüscher y Noll (1995).

La endotelina-1 se sintetiza en el endotelio como pre-proendotelina, es un péptido de 21 aminoácidos que causa vasodilatación a baja concentración y vasoconstricción a concentraciones altas (Yanagisaka y col., 1988), y se comporta como un factor mitógeno sobre las células musculares lisas, al menos *in vitro*. Las venas son más sensibles a la endotelina que las arterias. Como los niveles circulantes de endotelina son bajos se piensa que se forma en poca cantidad en el organismo y se conocen tres mecanismos que regulan su producción: a) un aumento de GMPc, b) un aumento de AMPc y c) un factor inhibitorio producido por las células musculares lisas de la pared vascular (Boulanger y Lüscher, 1990; Yokokawa y col., 1991; Stewart y col., 1990).

Existen dos tipos de receptores para la endotelina, el receptor ETA y el ETB, acoplados ambos a proteínas G (Arai y col., 1990; Sakurai y col., 1990). Las células musculares lisas expresan mayoritariamente receptores ETA y en menor medida receptores ETB, mediando contracción y proliferación, mientras que las células endoteliales solamente expresan receptores ETB y en ese caso la interacción de la endotelina con estos receptores lleva a la formación de NO y PGI<sub>2</sub>. Esto constituye un mecanismo feed-back de regulación negativa que reduce la producción de endotelina en el endotelio y su acción vasoconstrictora a nivel del músculo liso de la pared vascular (Lüscher, 1993) (Figura 11).

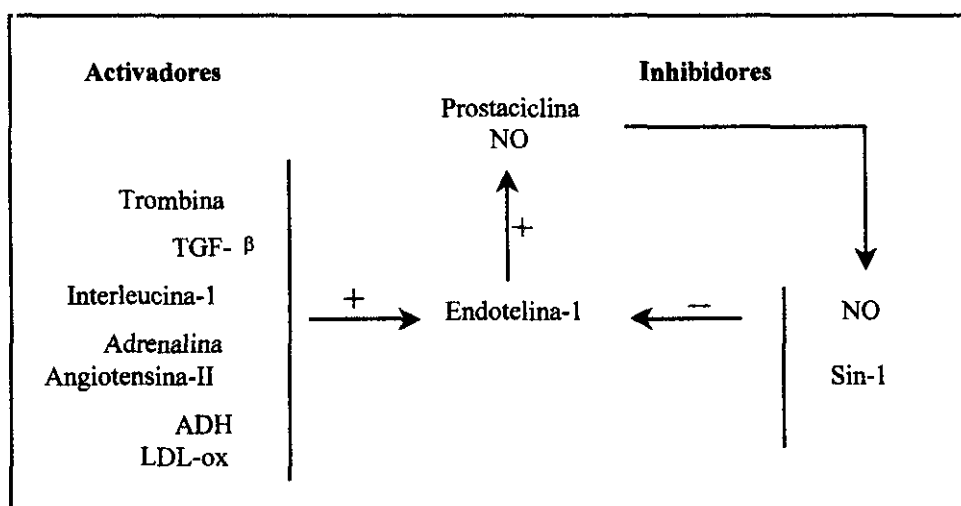


Figura 11. Moduladores de la síntesis de endotelina-1. Adaptado de Millán y col. (1997).

El TXA<sub>2</sub> y la PGH<sub>2</sub> son prostanoïdes derivados del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa, ambos median contracción en el endotelio al activar los receptores del tromboxano en el músculo liso vascular y en las plaquetas, de este modo contrarrestan la acción del NO y de la prostaciclina. Además la ciclooxigenasa puede dar lugar a aniones superóxido que inactivan el NO (Lüscher y Noll, 1995) (Figura 10). Por otra parte, el endotelio es capaz de

expresar otro factor regulador del tono vascular, la enzima conversora de la angiotensina que provoca la síntesis de un potente vasoconstrictor como es la angiotensina II que al activar los receptores de angiotensina endoteliales estimula la producción de endotelina y otros mediadores (Naftilan y col., 1991; Hirsch y col., 1991). La angiotensina II igual que otros mediadores, en concreto trombina, interleuquina  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) o LDL oxidadas, tienen un papel importante como inductores de la citocina MCP-1 tanto en endotelio como en célula muscular lisa o en macrófago.

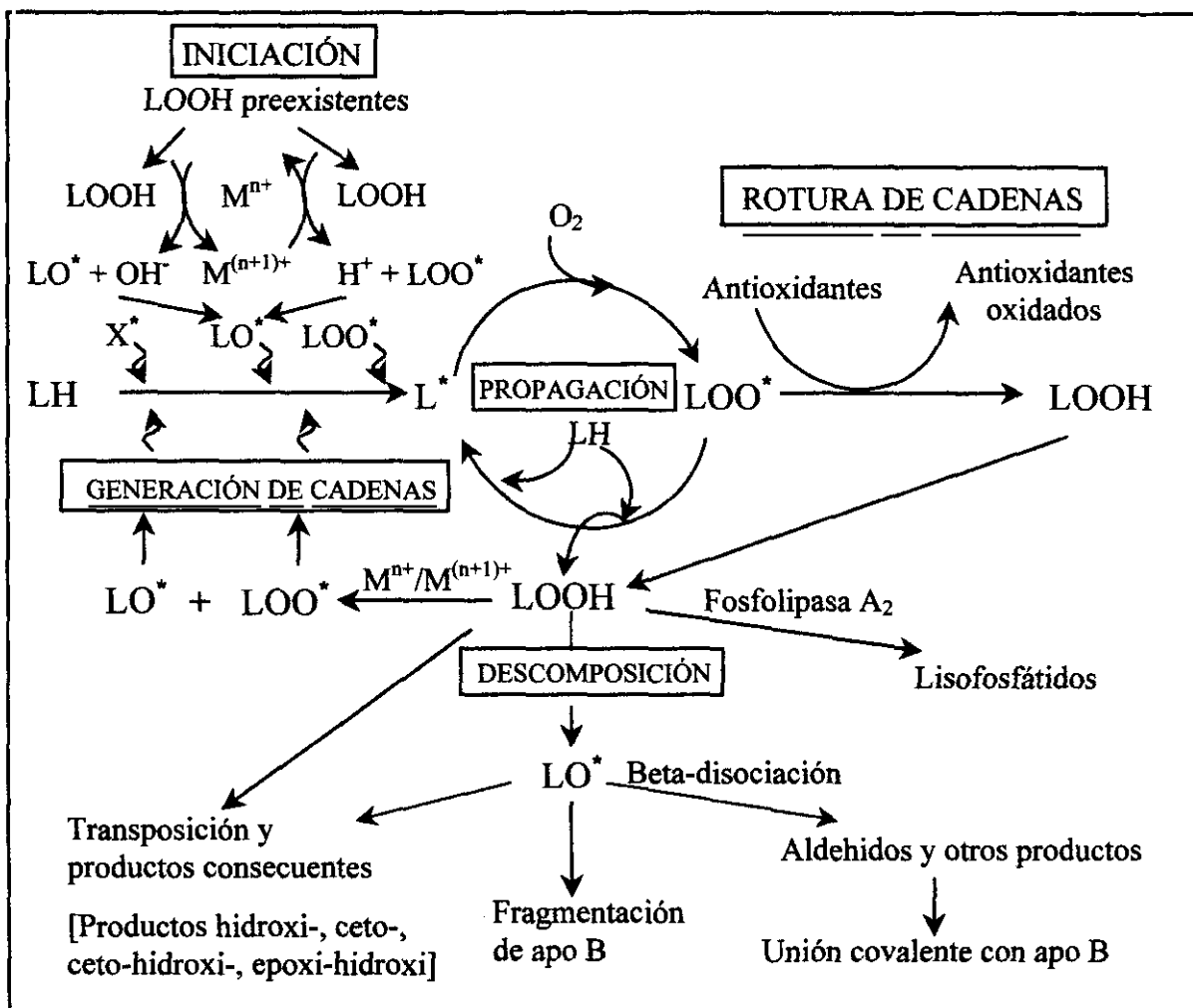
En el tejido de la pared vascular existen inhibidores y activadores de la adhesión de monocitos. Los factores quimiotácticos producidos por las células endoteliales y las células del músculo liso cuando están lesionadas o activadas afectan a la localización y migración de los monocitos de la sangre en la zona de la lesión. Las células endoteliales activas expresan varias proteínas de superficie para la adhesión de monocitos. Estas proteínas son las selectinas y las proteínas de adhesión. En células endoteliales nativas no están presentes las selectinas, pero en respuesta a factores como el TNF- $\alpha$ , la IL- $1\beta$ , la trombina, el lipopolisacárido y los ésteres de forbol, las células endoteliales se activan y aparecen sobre su superficie estas proteínas. Las proteínas de adhesión actúan como otro grupo de receptores, y pertenecen a la familia de las inmunoglobulinas (Badimón y col., 1994). Las células endoteliales pueden producir otro importante factor quimiotáctico para monocitos, el leucotrieno  $B_4$  (LTB $_4$ ), metabolito derivado del ácido araquidónico sintetizado a través de la vía de la lipooxigenasa.

### **1.2.3. Peroxidación de la LDL**

Los mecanismos de oxidación de la LDL por células son muy complejos y pueden deberse a varias alternativas. Las células son capaces de producir reactivos redox los cuales reaccionan directamente con la LDL, o más probablemente reducen algún ión metálico de transición presente facilitando la cadena de peroxidación y la descomposición de los peróxidos lipídicos. Recientes estudios (Rankin y col., 1991) sugieren que la actividad 15-lipooxigenasa forma los peróxidos iniciales. La implicación de la 15-lipooxigenasa en la oxidación de la LDL está apoyada por el hallazgo de que segmentos de aorta de conejos alimentados con colesterol y conejos WHHL convierten el ácido araquidónico en 15-hidroxi-5,8, 11,13-eicosatetranoico (15-HETE) (Simon y col., 1989; Henriksson y col., 1985). Otros estudios (Cathcart y col., 1991) señalan que la 15-lipooxigenasa no es esencial. Sin embargo, está claro que la oxidación de la LDL es significativamente acelerada por iones metálicos e inhibida por agentes quelantes tanto en presencia como en ausencia de células.

De acuerdo con esto se ha encontrado (Esterbauer y col., 1990; Sattler y col., 1991) que el  $\text{Cu}^{+2}$  se une fuertemente a la LDL que tiene al menos dos puntos distintos de unión, lo que es crucial para la iniciación de la peroxidación.

Se debe observar que cualquiera que sea el mecanismo que inicie la peroxidación la secuencia es siempre la misma, ésta es: pérdida de antioxidantes, peroxidación lipídica y descomposición de los hidroperóxidos lipídicos a aldehídos y otros productos (Figura 12).



**Figura 12.** Principales sucesos que acontecen durante la oxidación de la LDL. LH es un lípido que contiene un AGP; la principal especie de LH es el colesterol linoleato.  $\text{X}^*$  es un radical reactivo capaz de arrancar un átomo de H del LH;  $\text{L}^*$  es un radical lipídico secundario (por ej.  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}^*\text{H}-$ );  $\text{LOO}^*$  y  $\text{LO}^*$  son radicales peroxi-lipídicos y radicales alcoxi-lipídicos; LOOH son hidroperóxidos lipídicos; en su descomposición a  $\text{LO}^*$  y  $\text{LOO}^*$  iones metálicos en ambos estados de valencia (por ej.  $\text{Cu}^{++}/\text{Cu}^+$  ó  $\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$ ) pueden tomar parte, pero la reacción con  $\text{Cu}^+$  ó  $\text{Fe}^{++}$  es termodinámicamente favorable. Adaptado de Esterbauer y col. (1992).

Es claro si se observa esta figura que la medida de un único parámetro a un tiempo determinado no es suficiente para concluir si la oxidación de la LDL está en la fase temprana o tardía. Así el curso de la oxidación puede seguirse por medio de las siguientes determinaciones: incremento de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico

(TBARS), aumento de hidroperóxidos lipídicos, la formación de dienos conjugados, la desaparición de antioxidantes o de ácidos grasos poliinsaturados, y la fragmentación de apo B; ya que durante la modificación oxidativa de la LDL su apo B100 es degradada en varios fragmentos pequeños (Parthasarathy y col., 1985), siendo esta descomposición el resultado directo de la oxidación y no de la acción de enzimas proteolíticos. Cada una de estas determinaciones da sólo un aspecto del estado de oxidación. Respecto a las técnicas comúnmente utilizadas para estimar la peroxidación lipídica, hay que señalar que la formación de TBARS tiene una alta variación individual dependiendo del contenido de antioxidantes en plasma (Ray y col., 1954). En los últimos años se ha puesto en marcha una técnica con suficiente sensibilidad y especificidad para estudios *in vivo*: la medida de hidroperóxidos de fosfolípidos por detección quimioluminiscente post-columna tras separación mediante cromatografía líquida de alto rendimiento-HPLC (Miyazawa y col., 1994; Cadenas y col., 1996).

Basada en análisis dependientes de distintos tiempos la cronología de la oxidación en la LDL por iones  $\text{Cu}^{+2}$  se puede dividir en tres fases consecutivas: fase "lag", fase de propagación y fase de descomposición.

Usualmente se considera que la fase "lag" coincide con la formación de dienos conjugados a partir de la oxidación de los hidroperóxidos AGP con dobles enlaces conjugados. Durante esta fase la LDL comienza a perder el contenido en antioxidantes que según diferentes experimentos (Esterbauer y col., 1989; Esterbauer y col., 1989; Esterbauer y col., 1991) siguen la siguiente secuencia de desaparición: el  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferol, después los carotenoides descienden a cero con la criptoxantina primero y el  $\beta$ -caroteno el último. Durante este periodo sólo hay una mínima peroxidación lipídica en la LDL ya que su modificación oxidativa no ocurre si no está totalmente depletada de antioxidantes, por lo que la resistencia a la oxidación de la LDL está determinada principalmente por el contenido en antioxidantes, o mejor dicho, la fase "lag" debería predecirse a partir del "status" antioxidante de la LDL. Sin embargo, esto está en desacuerdo con los datos obtenidos en otros estudios (Esterbauer y col., 1991; Esterbauer y col., 1989; Esterbauer y col., 1992; Esterbauer y col., 1992) donde no se encontraron correlaciones claras y significativas entre la fase "lag" *versus*  $\alpha$ -tocoferol, o para la fase "lag" *versus* contenido total de antioxidantes (vitamina E + todos los carotenoides). Esto indica, al menos para este grupo de estudios, que el "status" antioxidante por sí mismo no es predictivo de la resistencia a la oxidación de la LDL, y esta conclusión se ve apoyada por otras observaciones en las que no se encontró, esencialmente



ninguna correlación entre el contenido en vitamina E de la LDL y su oxidabilidad por  $\gamma$ -radiación (Babiy y col., 1990) o por macrófagos (Jessup y col., 1990; Jessup y col., 1990). Todo esto conduce a pensar que la resistencia de la LDL a la oxidación depende de su contenido en antioxidantes además de otros factores tales como: la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, la relación de ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados, el contenido en colesterol, los peróxidos preformados, la estructura de la apo B o la cantidad de otros antioxidantes como son los plasmalógenos (Vance, 1990).

Cuando la LDL es depletada de sus antioxidantes (Brown y col., 1990) está expuesta a una cadena de reacciones autocatalíticas de peroxidación lipídica que se conoce como “fase de propagación”.

La peroxidación lipídica se acelera rápidamente de una manera exponencial hasta un máximo en el cual se forman en cada partícula de LDL tres moléculas de hidroperóxidos lipídicos. Este transito de la fase “lag” a la de propagación y el incremento exponencial de la oxidación está mediado por los iones  $\text{Cu}^{+2}$  (los cuales en este estadio probablemente son liberados de su unión a las LDL), que catalizan la descomposición de los hidroperóxidos lipídicos iniciales formados durante la fase “lag”, a radicales lipídicos ( $\text{LO}$ ,  $\text{LOO}^{\cdot}$ ), los cuales inician por cadenas ramificadas nuevas series de reacciones en cadena de radicales libres. Los hidroperóxidos lipídicos formados en la LDL durante la fase de propagación son productos intermediarios lábiles, y en el caso en el que  $\text{Cu}^{+2}$  estimula la oxidación alrededor de un 70-80% de los ácidos grasos poliinsaturados son oxidados hasta un máximo de peróxidos. Entonces las “reacciones de descomposición” llegan a ser predominantes y por consiguiente los hidroperóxidos lipídicos y los dienos conjugados comienzan a decrecer de nuevo.

La descomposición de hidroperóxidos lipídicos a aldehídos es un fenómeno general durante la peroxidación lipídica en sistemas biológicos (Esterbauer y col., 1991; Esterbauer y col., 1989) y muchos hallazgos sugieren que estos aldehídos: malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (HNE), entre otros, actúan como “segundos mensajeros tóxicos”. La mayoría de estos aldehídos (excepto el MDA) son lipofílicos y permanecen asociados a la LDL. Muchos investigadores sugieren que bastantes de los cambios importantes que suceden en la LDL durante la fase de descomposición es por estos aldehídos y sus reacciones con los residuos de aminoácidos en la apo B (Jürgens y col., 1987 ; Esterbauer y col., 1990; Hoff y col., 1988). Así la unión covalente de los aldehídos a la apo B está probablemente correlacionada con la formación de los característicos “epítopes” de la LDL oxidada, los cuales son reconocidos por los receptores “scavenger”. (Hoff y col., 1989; Jürgens y col.,

1987; Hoff y col., 1988) demuestran que los aldehídos serían los últimos agentes que causan daño.

Es importante destacar que durante la modificación oxidativa de la LDL se observa la hidrólisis de la fosfatidilcolina de esta lipoproteína (Parthasarathy y col., 1985) por una actividad fosfolipasa A<sub>2</sub>. Esta actividad hidrolítica está presente en las propias LDL y actúa específicamente sobre los fosfolípidos oxidados (Sevanian y col., 1981; Sevanian y col., 1985; Weglicki y col., 1984).

Hemos de recordar que los mecanismos de defensa de los organismos vivos frente a los efectos adversos de la peroxidación están integrados por un conjunto de antioxidantes enzimáticos (McCord y col., 1974; Romero y col., 1988) como son: la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión oxidasa, y una serie de antioxidantes no enzimáticos tales como: el glutatión reducido, el ácido ascórbico, el  $\alpha$ -tocoferol, los carotenos, la ferrooxidasa y la transferrina (Romero y col., 1991; Gey y col., 1987).

El glutatión es un antioxidante citosólico soluble en agua y a su vez un sustrato para dos clases de glutatión-peroxidasas dependientes de selenio, las cuales catalizan el metabolismo de los peróxidos lipídicos a alcoholes (Thomas y col., 1990). Los aldehídos formados a partir de la descomposición de los peróxidos lipídicos son metabolizados por conjugación con la glutatión-S transferasa (Jensson y col., 1986). Los resultados del estudio de Darley-Usmar (1993) sugieren que el glutatión es esencial para la protección de las células de los compuestos prooxidantes en la partícula LDL, y además señalan la posibilidad de que la inducción de la síntesis de glutatión es una respuesta adaptativa al cambio oxidativo.

#### **1.2.3.1. Mecanismos de protección de la LDL frente a la peroxidación**

Las LDL circulantes en plasma están protegidas de los efectos de la peroxidación lipídica por mecanismos antioxidantes celulares y extracelulares, los cuales sirven para atrapar las especies de oxígeno reactivas próximas a su sitio de formación y también tienen la función de inhibir las reacciones en cadena durante la formación de los radicales libres.

Las LDL contienen antioxidantes endógenos que pueden también impedir o limitar la cadena de reacciones de la formación de radicales peróxido lipídicos. Estos antioxidantes naturales incluyen ubiquinol, vitamina E, licopenos y  $\beta$ -carotenos, los cuales son oxidados preferentemente antes de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL (Esterbauer y col., 1989; Stocker y col., 1991). Es decir, la resistencia a la oxidación de las LDL estaría marcada por un equilibrio entre el grado de saturación de la grasa

administrada y el contenido del componente antioxidante. La vitamina E es el mayor antioxidante de la fase lipídica y protege tanto a las LDL de la modificación oxidativa (Halliwell, 1990), como a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares de la peroxidación, previniendo la formación de hidroperóxidos (Bonithon-Kopp y col., 1997). Desde luego la vitamina E es cuantitativamente el antioxidante más abundante presente en la LDL, y diferentes estudios *in vitro* sugieren que la interacción sinérgica entre la vitamina C y los radicales tocoferoxilos mantienen a la vitamina E en un estado funcional reducido (Packer y col., 1979; Doba y col., 1985).

Los  $\beta$ -carotenos tienen una acción antioxidante controvertida. Al parecer, pueden actuar a bajas presiones de oxígeno, las que probablemente existen en las paredes arteriales (Burton y col., 1984), y por ello pueden ser útiles en la angina de pecho (Manson y col., 1993).

Stocker y col. (1991) y Esterbauer y col. (1992) consideran al ubiquinol-10 como el antioxidante que protege de forma más eficaz a las LDL de la peroxidación lipídica. Estos autores se basan en la cinética de desaparición de antioxidantes y aparición de las primeras trazas de lípidos peroxidados definidos: primero desaparece el ascorbato, luego el ubiquinol-10 y más tarde el  $\alpha$ -tocoferol, los carotenoides y los uratos; pero los lípidos peroxidados empiezan a detectarse con la desaparición del ubiquinol-10. En contraste con este estudio, otros autores consideran que el ubiquinol-10 parece no ser importante ya que además de estar en muy baja concentración, está presente sólo en algunas partículas LDL (Esterbauer y col., 1992). En este sentido, Sato y col. (1990) encontraron que la rápida peroxidación lipídica coincide con la depleción de la vitamina E y el ascorbato, mientras que los uratos inhiben el consumo de vitamina E durante el proceso de oxidación de la LDL.

Los componentes hidrosolubles que previenen de la oxidación a las LDL en células cultivadas son el glutatión y el ascorbato, pero los más potentes inhibidores de la oxidación de las LDL son agentes quelantes de iones hierro y cobre (EDTA, desferrioxamina, etc.).

### **1.2.3.2. Importancia de la LDL oxidada en la aterogénesis**

Las LDL modificadas por oxidación parece que están implicadas en el desarrollo de la aterosclerosis (Steinberg y col., 1989). Independientemente del camino por el cual las LDL son peroxidadas *in vivo*, trabajos de Tatsuya Takano y col. (1993) indican la existencia de LDL peroxidadas en las lesiones ateroscleróticas como se comprobó usando anticuerpos

monoclonales DLR 1<sup>a</sup>/104G, los cuales reconocieron esta lipoproteína en aortas ateroscleróticas, así como LDL peroxidadas preparadas por peroxidación catalizada por SO<sub>4</sub>Cu. Las lesiones ateroscleróticas contienen lípidos peroxidados cuyo contenido está correlacionado con la extensión de los ateromas. Se han comparado las LDL extraídas de tejidos de la pared arterial con LDL plasmáticas, encontrando que existen diferencias en la distribución de los ácidos grasos, de forma que las LDL de aorta contienen menos ácido araquidónico y ácido linoleico en los ésteres de colesterol y triglicéridos (Hoff y Glaubatz, 1982). En el Cuadro 4 se muestran algunas de las diferencias entre las LDL plasmáticas y las LDL aórticas en humanos.

#### PROPIEDADES DE LA LDL AÓRTICA EN COMPARACIÓN CON LA LDL PLASMÁTICA

Aumento de la movilidad electroforética  
 Disminución del contenido en ácido linoleico y ácido araquidónico  
 Aumento del contenido en ácido esteárico y ácido oleico  
 Cambios moderados (aumento o disminución) de ésteres de colesterol  
 Disminución del contenido en esfingomielina  
 Asociación con glicosaminoglicanos  
 Aumento de la tendencia a agregar  
 Aumento del diámetro de la partícula de LDL de 22 a 25 nm  
 Aumento de la captación por los receptores "scavenger" de los macrófagos

**Cuadro 4.** Propiedades de la LDL aórtica en comparación con la LDL plasmática. Datos tomados de Hoff y Glaubatz (1982); Camejo y col. (1994); Shaikh y col. (1988) y Ylä-Herttuala y col. (1988).

También se han encontrado en la aorta de pacientes con enfermedad isquémica crónica ésteres de colesterol oxigenados (probablemente linoleato de colesterol) formados por actividad 15-lipooxigenasa (Belkner y col., 1991). Simon y col. (1989) observaron que mientras segmentos de aorta de conejos sanos incubados con ácido araquidónico producían 12-HETE (principal producto de la 12-lipooxigenasa), si procedían dichos segmentos de aorta de conejos con una dieta rica en colesterol, daban lugar a 15-HETE, lo que demuestra que en arterias ateroscleróticas aumenta la actividad de la 15-lipooxigenasa. A este respecto, Ylä-Herttuala y col. (1990), McNally y col. (1990) y Rankin y col. (1991) han sugerido el papel clave de la 15-lipooxigenasa en la oxidación de la LDL.

La LDL modificada por oxidación, al igual que otros tipos de LDL modificadas, no son reconocidas por el receptor de la LDL nativa, sino que entran en la célula a través de

una familia de receptores denominados "scavenger" (Brown y col., 1990) que las captan por endocitosis, los cuales no ejercen un control feed-back lo que se traduce en una acumulación de colesterol dentro de las células (Brown y col., 1983). Estos receptores se encuentran, fundamentalmente, en los macrófagos y células musculares lisas, aunque también se han detectado en otras células como las endoteliales, y son capaces de reconocer las LDL modificadas (Goldstein y col., 1979).

Tratamientos de LDL tales como acetoacetilación (Mahley y col., 1979), malelización (Goldstein y col., 1979), succinilización (Haberland y col., 1984), carbamilación (Gonen y col., 1983) o la incubación con MDA o glutarilaldehído (Fogelman y col., 1980) conducen a especies de LDL reconocidas por el receptor "scavenger". En cualquiera de estos procesos de modificación, un paso de crucial importancia para el reconocimiento de las LDL modificadas por el receptor "scavenger" es el bloqueo de los grupos amino de lisinas y argininas de la apo B, lo que conduce a un aumento de la carga negativa de la LDL. Este receptor no solo es capaz de reconocer lipoproteínas sino también otros ligandos cargados negativamente como los polianiones (Brown y col., 1983).

El ligando característico del receptor "scavenger" *in vivo* es la LDL oxidada. Los productos de la peroxidación lipídica, incluyendo los aldehídos y peróxidos (Estorbaner y col., 1992), particularmente aldehídos tales como el HNE y el MDA son capaces de reaccionar con los grupo  $\epsilon$ -amino de los residuos de lisina de la partícula LDL originando una LDL citotóxica reconocible por el receptor scavenger. En este sentido, el grupo de Fogelman y Haberland (Fogelman y col., 1980; Haberland y col., 1984; Haberland y col., 1985; Haberland y col., 1982) estudiaron la modificación *in vivo* de LDL por MDA y observaron que durante la agregación de los trombocitos se libera una cantidad apreciable de MDA, el cual modificaría las partículas LDL cercanas (Fogelman y col., 1980; Haberland y col., 1982). Si se compara la capacidad de modificación por el MDA con la del HNE, otro producto aldehídico final de la peroxidación lipídica del ácido linoleico o del ácido araquidónico, se demuestra que el HNE es un modificador más fuerte al compararlos molarmente (Jürgens y col., 1986). Además aparte de la lisina el HNE también modifica otros residuos aminoácidos, tales como la tirosina, serina e histidina (Jürgens y col., 1986). La LDL modificada por bajas concentraciones de HNE también tenía reducido su anclaje y posterior captación por el receptor-LDL de fibroblastos (Jessup y col., 1986).

La capacidad de modificar oxidativamente la LDL no se circunscribe solo a una especie de célula. Darley-Usmar y col. (1993) señalan que células del músculo liso y células del endotelio pueden oxidar la LDL *in vitro*. No obstante esto quizá no pueda ser trasladado a

la oxidación de la LDL en las paredes arteriales. (Parthasarathy y col., 1986; Yla-Herttuala y col., 1990) encontraron que los macrófagos aislados son capaces de promover reacciones de peroxidación lipídica dentro de la LDL, y se ha sugerido que este es un mecanismo primario *in vivo* que conduce a la oxidación de la LDL y a la modificación de la pared arterial.

Los macrófagos son capaces de captar las LDL oxidadas (Darley-Usmar y col., 1993) siendo la peroxidación lipídica un prerequisite para su captación (Steinbrecher y col., 1984). Parthasarathy y col. (1987) demostraron que la fracción solubilizada de apo B después de la delipidización de la LDL oxidada es la responsable del reconocimiento de esta lipoproteína por el receptor "scavenger".

En estudios sobre la degradación por los macrófagos de las LDL oxidadas y de las LDL acetiladas, se comprobó que la apo B de las primeras sólo se degrada un 50% por las catepsinas (proteasas lisosomales) (Sparrow y col., 1989). Esto significa que cantidades significativas de LDL oxidada se acumulan en el macrófago sin degradarse. La resistencia de la LDL oxidada a la degradación proteolítica por la catepsina es probablemente una consecuencia de la modificación de la apo B por los productos de peroxidación lipídica (Lougheed y col., 1991). Otra diferencia en el procesado intracelular macrofágico entre LDL acetilada y LDL oxidada es que la última tiene un contenido en ésteres de colesterol significativamente más bajo, debido posiblemente a su menor contenido de colesterol ya que algunos oxisteroles formados por el proceso de oxidación inhiben la actividad ACAT.

La adición de vitamina E (0,1 mg/mL) al medio de incubación previene la captación de las LDL nativas por las células espumosas, sugiriendo esto que la modificación oxidativa local de las LDL juega un papel en la captación de LDL por las células espumosas.

Así hay una evidencia de que la modificación oxidativa de la LDL conduce a una forma de lipoproteína la cual es captada de forma no regulada por los receptores "scavenger" de macrófagos conduciendo a la formación de células espumosas características de las lesiones ateroscleróticas tempranas (Ross, 1993). La caracterización e identificación de estos receptores permitiría el desarrollo de herramientas farmacéuticas para influir en la formación de estas células espumosas y posiblemente en la aterosclerosis. En este sentido, Van Berkel y col. (1991) encontraron que las células Kupffer eran el principal sitio para la eliminación de las LDL oxidadas por el hígado. El rápido procesamiento de los ésteres de colesterol derivados de las LDL oxidadas a ácidos biliares indica que las células Kupffer forman un sistema de protección eficaz frente a la presencia de partículas LDL oxidadas aterogénicas en el compartimento sanguíneo (Pieters y col., 1994).

Ottad y col. (1992), en macrófagos peritoneales murinos y en células espumosas procedentes de la placa aterosclerótica y de Rijke y col. (1989), en células kupffer, identificaron una proteína 95-Kda como el lugar de interacción específico para las LDL oxidadas. Por lo tanto, se puede concluir que esta proteína hepática actúa protegiendo frente a la circulación de LDL oxidada y puede también mediar la formación de células espumosas en las placas ateroscleróticas (van Berkel y col., 1995).

#### 1.2.3.2.1. LDL oxidada y respuestas vasculares

La aparición de placas de ateroma es precedida de alteraciones de la respuesta vasomotora a distintas sustancias, tanto vasoconstrictoras como vasodilatadoras, lo cual puede alterar la capacidad de adaptación del flujo sanguíneo a las necesidades de los órganos que irrigan dichos vasos (Steinberg, 1993).

En este sentido se ha observado en experimentos llevados a cabo en arterias aisladas, que la presencia de LDL oxidadas disminuye significativamente la capacidad de relajación inducida por la acetilcolina (Ach) (Jacobs y col., 1990; Plane y col., 1992; Galle y col., 1994) y, como consecuencia de esta disfunción, un incremento en la respuesta vasoconstrictora a distintas sustancias, lo cual puede asociarse con las alteraciones vasculares observadas en distintas condiciones patológicas que cursan con alteraciones del perfil lipídico. La relajación inducida por Ach está medida por la liberación de sustancias vasodilatadoras como el NO, el EDHF, prostaciclina y otras (Marín y col., 1990).

Se ha demostrado que la incubación con las LDL oxidadas produce una disminución (Galle y col., 1994; Simon y col., 1990) o inhibición (Kugiyama y col., 1990; Yokoyama y col., 1990) de la relajación dependiente de endotelio. En este sentido, se ha descrito que las LDL oxidadas inactivan al NO (Galle y col., 1991; Chin y col., 1992) y que inhiben la activación de la guanilato ciclasa en células endoteliales en cultivo (Schmidt y col., 1991). Recientemente los efectos de las LDL oxidadas se han atribuido a la presencia de las fosfatidilcolinas, concretamente a la lisolecitina procedente de la degradación de aquellas, que se encuentran en las LDL modificadas y en la pared arterial de animales ateroscleróticos (Kugiyama y col., 1990). Aunque no se conoce con exactitud el mecanismo implicado, existen estudios que ponen de manifiesto que la fosfatidilcolina incrementa la sensibilidad al calcio a través de activación de la proteína quinasa C (PKC) (Jensen y col., 1996).

Las LDL oxidadas pueden actuar no solo sobre las células endoteliales, sino directamente sobre las células musculares lisas de la pared vascular (Galle y col., 1990),

induciendo per se una respuesta vasoconstrictora y/o un incremento en la respuesta vasoconstrictora inducida por distintas sustancias como noradrenalina (NA), 5-HT y potasio, lo cual se traduciría en un incremento de la resistencia vascular.

En el conocimiento del efecto directo de las LDL oxidadas sobre el músculo liso vascular quedan pendientes muchas cuestiones, entre otras; las concentraciones mínimas necesarias para inducirlos, su posible relación con el tiempo de incubación, si el efecto se revierte al eliminarlas del medio, los mecanismos intracelulares implicados, la susceptibilidad según el lecho vascular analizado, si las modificaciones afectan por igual a las respuestas vasomotoras inducidas por diferentes agentes vasoconstrictores o si muestran selectividad por algunos de ellos.

#### 1.2.3.2.2. Implicación de los peróxidos lipídicos en el desarrollo de la aterosclerosis

Yagi y col. (1981) especularon acerca de si el nivel incrementado de los peróxidos lipídicos en el plasma podría provocar el daño endotelial de las células de la arteria. Con este fin examinaron la íntima de la aorta después de la inyección intravenosa del hidroperóxido del ácido linoleico en el conejo. Transcurridas veinticuatro horas tras la inyección se encontró que las células eran irregulares y presentaban muchos hoyos. Además existían agregados de plaquetas que se adherían a los sitios donde se había provocado el daño.

La biosíntesis de la prostaciclina es inhibida por los peróxidos lipídicos (Szczeklik y col., 1980; Sasaguri y col., 1985), y es bien conocido que la prostaciclina inhibe la agregación plaquetar y su adherencia a la íntima lesionada.

Las células endoteliales son más susceptibles a los hidroperóxidos que las células del músculo liso. Aun así, la formación de células espumosas procedentes del músculo liso es acelerada por los hidroperóxidos lipídicos.

Nishigaki y col. (1984) demostraron en cultivos de células de músculo liso arterial y en LDL marcadas con  $^{125}\text{I}$  que la captación e internalización de LDL se aceleraba por los peróxidos lipídicos y de esta manera el colesterol y otros lípidos llevados por la LDL son depositados en las células. Otro resultado era la observación de que los peróxidos lipídicos atacan a las células del músculo liso y hacen que estas capten LDL. Otra fuente como ya se indicó de formación de células espumosas son los macrófagos. Yagi (1993) indica que la modificación de la LDL por los peróxidos lipídicos es necesaria para que esta sea captada por los macrófagos. De estos resultados se deduce que los peróxidos lipídicos juegan un papel fundamental en la patogénesis de la aterosclerosis, no sólo iniciando el daño de la célula



endotelial arterial sino también contribuyendo a la formación de la placa de ateroma.

Yagi (1993) sugiere que los peróxidos lipídicos son formados en algún sitio del cuerpo y luego son transferidos a otro lugar por medio del torrente sanguíneo provocando entonces desordenes secundarios. También insiste en que los hidroperóxidos lipídicos pueden ser convertidos a sus especies de radicales libres por la catálisis de los metales de transición. En la Figura 13 se muestra el proceso de descomposición de los hidroperóxidos lipídicos.

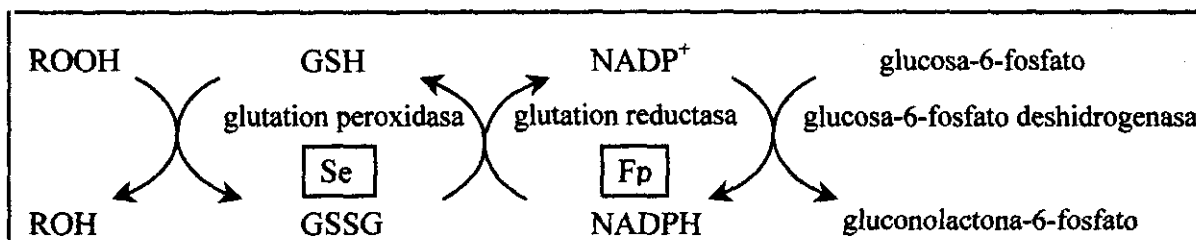


Figura 13. Descomposición de los hidroperóxidos lipídicos. Tomada de Yagi (1993).

La generación de radicales hidroxilo ha sido también observada con los peróxidos lipídicos que contenían las LDL modificadas oxidativamente (Yagi y col., 1993).

Además (Yagi y col., 1990) los complejos de adrenalina-Fe provocan la transferencia de electrones dependientes de la peroxidación lipídica en las membranas microsomales. Esto explicaría en parte la aterogénesis inducida por las catecolaminas (Kukreja y col., 1981) y el stress como inductor de la aterogénesis (Kaplan y col., 1983).

Investigaciones de Inkuda (1991) señalan también que los hidroperóxidos del ácido linoleico pueden atravesar la membrana celular y alcanzar el núcleo donde inhibe la transcripción de la DNA polimerasa impidiendo así la replicación del DNA. Esto conduce a la muerte de la célula o a la pérdida de su capacidad para replicarse. Estos efectos irreversibles sobre las células podrían ser la causa de las enfermedades que se relacionan con la edad y el envejecimiento mismo.

#### 1.2.4. Factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular

Se denominan factores de riesgo a las características personales y hábitos de vida que se relacionan, de modo independiente, con la probabilidad de desarrollar enfermedad cardiovascular. La edad es, sin duda, un factor importante, pero hay otros muchos que influyen de forma variable en ambos sexos y que deben ser considerados simultáneamente, pues la combinación de factores de riesgo produce niveles de vulnerabilidad más elevados (Gotto A.M., 1986).

Como resultado de una larga investigación se han establecido edad, tabaquismo, hipertensión, colesterol sanguíneo alto y obesidad como factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Cuadro 5). En los últimos años, los investigadores se han centrado en el papel de factores hemostáticos (Meade y col., 1986; Miller, 1986; Ernst, 1990) y en la importancia de un conjunto de factores de riesgo metabólicos descritos bajo los términos de “síndrome metabólico” o “síndrome X” (Reaven, 1988) o más recientemente como “síndrome de grasa visceral” (Matsuzawa y col., 1993). Otros factores de riesgo, tales como niveles altos de homocisteína (Genest y col., 1990) y un pobre *status* antioxidante (Duthie y col., 1993), suscitan gran interés por sus posibles implicaciones en los mecanismos por los cuales la dieta influye en esta enfermedad.

ESTABLECIDOS	PROPUESTOS
	Hemostáticos:
Historia familiar	Fibrinógeno
Edad	Factor VII
Tabaquismo	Metabólicos:
Hipertensión	HDL-C
Niveles elevados de colesterol	Triglicéridos
	Resistencia a la insulina
	Distribución de subtipos de LDL
	Obesidad central
	Otros:
	Homocisteína
	<i>Status</i> antioxidante

**Cuadro 5.** Factores de riesgo establecidos y propuestos para la enfermedad cardiovascular en hombres y mujeres. Según Williams (1997).

A continuación se tratarán con detalle cada uno de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular más importantes agrupándolos en no modificables y modificables, reservando un espacio propio para la Lp(a) como destacado factor de riesgo cardiovascular tanto por su efecto trombótico como aterogénico.

#### 1.2.4.1. *No modificables*

##### 1.2.4.1.1. Edad

El envejecimiento es un proceso natural que cursa con un descenso de la respuesta biológica a factores intrínsecos y extrínsecos y con un mayor riesgo de presencia de procesos cardiovasculares y metabólicos (Gil Extremera y col., 1997). La enfermedad cardiovascular y

la edad son inseparables en sociedades desarrolladas, siendo la causa más común de mortalidad en poblaciones afeadas. Los factores de riesgo que influyen en la aparición de enfermedades cardiovasculares en los ancianos son prácticamente los mismos que operan en sujetos de mediana edad (Kannel, 1997; Howard y col., 1997), y aunque el riesgo relativo de algún factor de riesgo dado sea menor en individuos ancianos, el riesgo absoluto de morbimortalidad aumenta marcadamente con la edad (LaRosa, 1996).

La intolerancia a la glucosa y la diabetes mellitus son factores de riesgo altamente prevalentes en los ancianos y están asociados con perfiles adversos para la enfermedad cardiovascular (Rodríguez y col., 1996; Stolk y col., 1997). También la hipertensión, obesidad e hipercolesterolemia se muestran como factores cardiovasculares de gran incidencia en las poblaciones afeadas (Gil Extremera y col., 1997). En resumen, podemos afirmar que los predictores más significativos de enfermedad cardiovascular en los ancianos son: niveles altos de colesterol sanguíneo y triglicéridos, así como concentraciones bajas de HDL-colesterol. El papel de los antioxidantes como protectores cardíacos es poco relevante en este grupo de población, sin embargo la corrección de los desórdenes lipídicos mediante terapia medicamentosa o dietaria puede prolongar y mejorar la calidad de vida de estos sujetos, aunque no se logre retrasar la mortalidad eventual (Playford y col., 1997).

#### 1.2.4.1.2. Sexo

Muchos estudios epidemiológicos y clínicos han definido la menor incidencia de enfermedad cardiovascular en mujeres en comparación con hombres de la misma edad (Stajszczyk y col., 1997; Caulin Glaser y col., 1998). En las mujeres los síntomas de enfermedad arterial coronaria se presentan de 10 a 15 años mas tarde que en hombres (Sutton Tyrrell y col., 1998). En el Reino Unido la tasa de muerte por enfermedad cardiovascular en mujeres de cualquier edad es aproximadamente equivalente a la que presentan los hombres 10 años antes. Estas diferencias entre sexos pueden ser debidas a los efectos cardioprotectores de los estrógenos, ya que después de la menopausia, cuando la producción ovárica de estrógenos desciende casi a cero, las diferencias entre sexos son menos significativas. Punnonen y col. (1997) señalaron el importante papel de una función ovárica normal en la prevención de la aterosclerosis al encontrar que mujeres con ciclos menstruales irregulares presentaban una concentración plasmática de fibrinógeno significativamente mas alta que la encontrada en mujeres con menstruaciones normales. Además en estas últimas la presencia de esclerosis en la íntima de la arteria uterina era significativamente menos frecuente que en

las primeras, existiendo una correlación positiva entre la concentración plasmática de fibrinógeno y el contenido de colesterol esterificado en la capa íntima de la arteria uterina. Phillips y col. (1997) apoyan la idea de que una alteración a nivel endógeno de hormonas sexuales se puede relacionar con enfermedad cardiovascular en mujeres, ya que encontraron una asociación significativamente positiva entre el nivel de testosterona libre y la presencia de enfermedad coronaria.

Los mecanismos por los cuales los estrógenos ejercen sus efectos cardioprotectores incluyen: inhibición de la proliferación y migración de las células del músculo liso (Dai Do y col., 1996), mejora de la función endotelial (Vogel, 1997) mediante la limitación de la respuesta inflamatoria al daño endotelial modulando la expresión de moléculas de adhesión celular procedentes del endotelio (Caulin Glaser y col., 1998) y aumentando la biodisponibilidad del NO consiguiendo así un mayor grado de vasodilatación dependiente del endotelio (Guetta y col., 1997) y efectos beneficiosos sobre las vías específicas del metabolismo lipídico mediante la up-regulation del receptor de la LDL, la inhibición de la lipasa hepática (McNamara y col., 1987; Tan y col., 1995) y el incremento de la síntesis de apo AI. También los estrógenos han mostrado inhibir la oxidación de la LDL mediada por cobre y por células *in vitro*, sin embargo Mc Manus y col. (1997) no apoyan el papel de los estrógenos como antioxidantes *in vivo*, ya que en su estudio no observaron cambios en el tiempo de retraso de la oxidación ni en la velocidad máxima de propagación y tampoco hubo cambios en el cociente ésteres de colesterol/colesterol libre dentro de la LDL.

Por todo lo mencionado hasta ahora se podría pensar que la enfermedad cardiovascular atañe solamente a los hombres y que las mujeres son relativamente resistentes. Sin embargo la enfermedad cardiovascular es responsable del 23% de toda la mortalidad femenina y la mayor causa de muerte prematura entre mujeres con menos de 60 años (Office of Population Censuses and Surveys, 1993). Además las mujeres tienen peor pronóstico que los hombres cuando sufren un infarto de miocardio. En el estudio de Framingham la mortalidad un año después de haber padecido un infarto de miocardio era 45% para mujeres y 20% para hombres (Kannel y col., 1979). Walsh & Grady (1995) sugieren que el incidente cardíaco más tardío y de mayor severidad sufrido por las mujeres se debe a diferencias en los procesos bioquímicos involucrados. Por estas razones, puede ser incorrecto asumir que los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular para hombres y mujeres son los mismos (Hulley y col., 1992).

La menor susceptibilidad de las mujeres a desarrollar enfermedades cardiovasculares se debe en parte a su menor prevalencia de factores de riesgo metabólicos y

por otro lado a que presentan un perfil lipídico más favorable que los hombres, siendo su principal característica la más alta concentración de HDL-colesterol (Gregory y col., 1990), el cual ejerce una protección significativa frente a la enfermedad cardiovascular prematura. También cabe destacar las concentraciones más bajas de triglicéridos y la distribución más beneficiosa de los subtipos de LDL. A este respecto se sabe que en sujetos jóvenes normolipémicos con un peso corporal normal hay una clara diferencia en la distribución de los subtipos de LDL según el género; las mujeres poseen predominio de LDL grandes (LDL I) y los hombres de LDL pequeñas (LDL III) (Griffin y col., 1990; Tan y col., 1995), estas últimas son el subtipo aterogénico (Austin y col., 1990). Sin embargo, en la menopausia el perfil lipídico de las mujeres empeora, produciéndose un aumento en las concentraciones de LDL-colesterol y reducciones adversas en la HDL-colesterol, pero estas últimas no son marcadas (Stevenson y col., 1993) por lo que los efectos protectores de las hormonas femeninas se prolongan algún tiempo pasada la menopausia. Las concentraciones de triglicéridos aumentan en mujeres posmenopáusicas pero no llegan a los niveles encontrados en hombres mayores y están generalmente próximos a los valores observados en varones jóvenes normolipémicos (Cohn y col., 1988).

Estudios epidemiológicos y postmortem han identificado una conexión entre la menopausia y la enfermedad cardiovascular. Las mujeres premenopáusicas tienen un espesor de la íntima significativamente menor que las posmenopáusicas, y la prevalencia de placa focal aterosclerótica es de 25% entre las primeras frente a un 54% en las segundas (Sutton Tyrrell y col., 1998). Para paliar el aumento de riesgo cardiovascular en las mujeres posmenopáusicas es útil aplicarles terapia de reemplazamiento hormonal (TRH) con estrógenos solos o acompañados de progestágenos, ya que con esta medida se reduce aproximadamente un 50% el riesgo cardiovascular en este grupo de población (Sullivan y col., 1996). Farish y col. (1996) estudiaron el efecto de la TRH en 80 mujeres posmenopáusicas y observaron que tras un año de tratamiento con estradiol por vía oral se conseguía un aumento estadísticamente significativo de HDL-colesterol, también se lograban tendencias a la baja en los niveles de LDL-colesterol y Lp(a). En este mismo estudio también evaluaron los efectos de la TRH combina (estrógenos + progestágenos) con la que se producía una disminución en los niveles de HDL-colesterol y cambios favorables en triglicéridos, VLDL y Lp(a), lo que puede contrarrestar el efecto adverso sobre las HDL. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por otros investigadores en estudios de similares características (Folsom y col., 1996; Mc Manus y col., 1997; Mijatovic y col., 1997).

Los contraceptivos orales que contienen estrógenos pueden disminuir el nivel plasmático de vitamina E en mujeres jóvenes, sin embargo la TRH combinada en mujeres sanas posmenopáusicas no altera el status de vitamina E *in vivo* (Wen y col., 1997). Baron y col. (1998) demostraron que la TRH en mujeres posmenopáusicas influye de forma diferente en las capas de la arteria carótida, fomentando el crecimiento de las capas con un alto porcentaje de tejido conectivo (externa y media) y demorando el engrosamiento de la capa íntima ateromatosa, siendo estos efectos sobre el sistema vascular parcialmente responsables de la cardioprotección atribuida a la TRH. En resumen, los efectos cardioprotectores de la TRH son indiscutibles, probablemente porque se consiguen niveles altos de HDL-colesterol que hacen que el resto de factores de riesgo sean cuantitativamente menos importantes (Seed & Crook, 1994).

Ya hemos mencionado que la menor susceptibilidad de las mujeres a desarrollar enfermedad cardiovascular se debe a su protección biológica frente factores de riesgo metabólicos. Esta idea se apoya en la observación de que cuando valores anormales de estos factores de riesgo (por ej. niveles elevados de triglicéridos, concentraciones bajas de HDL, obesidad central) están presentes en ellas se reducen sumamente las diferencias en el riesgo cardiovascular entre ambos sexos. Numerosos estudios señalan a estos marcadores determinantes en el riesgo distintivo de enfermedad cardiovascular en mujeres, en lugar de factores de riesgo establecidos (por ej. alto nivel de colesterol sanguíneo) que por lo general se han obtenido de estudios en poblaciones masculinas. Esta idea se apoya en los hallazgos procedentes de estudios que evalúan el impacto de los triglicéridos séricos y la obesidad central sobre el riesgo cardiovascular en mujeres. En estudios de poblaciones de hombres las concentraciones de triglicéridos en ayuno no parecen ser marcadores independientes de riesgo para enfermedad cardiovascular, sin embargo cuatro estudios prospectivos de poblaciones femeninas han demostrado que los valores elevados de triglicéridos en ayuno se asocian fuertemente con riesgo cardiovascular (Kannel y col., 1971; Bottinger & Carlson, 1982; Johanssen y col., 1988; Bengtsson y col., 1993). El estudio de Framingham mostró que en mujeres los predictores más fuertes eran una concentración de triglicéridos superior a 1,7 mmol/L y un valor de HDL inferior a 1,3 mmol/L (Castelli y col., 1986; Castelli, 1988). Un seguimiento prospectivo de 1.462 mujeres durante un periodo de 20 años en Gothenburg, Suecia (Bengtsson y col., 1993) demostró una asociación fuerte entre las concentraciones séricas de triglicéridos y la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Aunque el colesterol total sanguíneo y el índice de masa corporal (IMC) presentaban inicialmente una asociación significativa con la incidencia de enfermedad cardiovascular en esta población, la corrección

por efectos de los triglicéridos elevados en el primero y la obesidad central (cociente cintura/cadera) en el último suprimieron algunos efectos significativos de estas dos variables. Con respecto a la obesidad central numerosos investigadores la presentan como un fuerte factor de riesgo tanto en hombres como en mujeres, aunque estudios en mujeres (Lapidus y col., 1984; Higgins y col., 1988; Bengtsson y col., 1993; Manson y col., 1995) generalmente obtienen valores para factores de riesgo relativos más altos que los encontrados en hombres (Larsson y col., 1984; Ducimetiere y col., 1986; Donahue y col., 1987). Conviene recordar que las mujeres tienen la grasa corporal predominantemente localizada en las regiones glúteas y los hombres en la región central. Con la edad hay una tendencia en las mujeres a desarrollar una distribución de grasa androgénica, aunque se mantienen claras distinciones entre los dos sexos (Ley y col., 1992). Manson y col. (1995) llevaron a cabo un seguimiento durante 18 años para evaluar la relación entre variables antropométricas y riesgo cardiovascular en mujeres. Este estudio mostró al IMC, cociente cintura/cadera y la ganancia de peso en la vida adulta como factores de riesgo significativos de enfermedad cardiovascular. Aunque el cociente cintura/cadera no era tan fuerte predictor de mortalidad total como el IMC si que aparecía como fuerte predictor de muerte debido a enfermedades cardiovasculares, sugiriendo que este marcador es un factor de riesgo discriminante y altamente específico para esta enfermedad.

En cuanto a la importancia de la resistencia a la insulina como un factor de riesgo cardiovascular en mujeres varios estudios mitigan su importancia al no encontrar relación, sin embargo en hombres este marcador de riesgo es importante (Cullen y col., 1983; Modam y col., 1991).

Finalmente se puede concluir que en las mujeres son los triglicéridos séricos elevados, la baja concentración de HDL y la obesidad central fuertes discriminantes de riesgo de enfermedad cardiovascular y pueden ser más valiosos para identificar grupos de alto riesgo en mujeres que algunos de los otros factores de riesgo establecidos (Williams, 1997).

#### 1.2.4.1.3. Historia familiar de enfermedad cardiovascular

Hay diversos estudios que demuestran una predisposición familiar a la cardiopatía isquémica sin otro factor de riesgo justificativo (Pasquarella y col., 1996; Ciruzzi y col., 1997; Liao y col., 1997). Posiblemente sea el resultado de una interacción de factores genéticos y ambientales. Sentí y col. (1997) señalan que adultos sanos con una historia familiar de aterosclerosis tienen 4 veces más riesgo de poseer valores anormales de LDL-

colesterol/apo B y VLDL-triglicéridos/HDL-colesterol, reflejando desordenes metabólicos y por tanto una predisposición al desarrollo de enfermedad cardiovascular. En este mismo sentido se pronuncian (Clarkson y col., 1997), quienes afirman que una historia de enfermedad arterial coronaria prematura en un pariente de primer grado es un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria. Estos autores descubrieron que jóvenes adultos sanos con una historia familiar de enfermedad coronaria prematura tenían dañada la dilatación dependiente del endotelio en ausencia de otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, lo que sugiere una influencia genética sobre su fisiología arterial.

La historia familiar de enfermedad coronaria es incluso más fuerte predictor de morbilidad y mortalidad por eventos coronarios que la historia familiar de diabetes mellitus insulino-independiente (Kekäläinen y col., 1996).

En general hay que sospechar este problema cuando antes de los 55 años se detecten eventos cardiovasculares en distintos miembros de una familia, lo cual aumenta el riesgo de dos a cinco veces en los pertenecientes a la misma (Snowden y col., 1980). Tiene especial importancia en estos casos un estricto control de otros factores de riesgo.

#### 1.2.4.1.4. Diabetes mellitus

La diabetes mellitus duplica el riesgo de mortalidad cardiovascular (Steiner, 1986). Datos procedentes del estudio de Framingham indican que en los diabéticos adultos la incidencia anual de muerte por causas cardiovasculares es aproximadamente un 17% en hombres y mujeres, frente al 8,5% en hombres no diabéticos y un 3,6% en mujeres no diabéticas. El riesgo de enfermedad cardiovascular en sujetos con diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI) varía según el sexo; para las mujeres el riesgo cardiovascular aumenta de 4-5 veces frente al de los hombres que aumenta de 2-3 veces (Barrett-Connor y col., 1991). Koivisto y col. (1996) señalan que la prevalencia de enfermedad cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI) es aproximadamente del 10%, y ésta se incrementa con la edad y duración de la diabetes.

Las complicaciones crónicas de la diabetes están dominadas por desórdenes del sistema vascular (McMillan, 1997), siendo los problemas macrovasculares, aterosclerosis de los grandes vasos, los que representan la mayor parte de morbilidad y mortalidad en estos enfermos (Stern, 1998). La predisposición de los diabéticos al desarrollo de vasculopatía se produce a través del depósito de lípidos dentro de las paredes de los vasos asociado con la



infiltración de monocitos, proliferación de células del músculo liso, fibrosis arterial, y trombosis (Schneider y col., 1997). En cuanto a tasas de morbilidad, la cardiopatía coronaria y la enfermedad cerebrovascular son 2-3 veces más frecuentes, y la arteriopatía periférica 4 veces más frecuente que en la población no diabética (Garber y col., 1992; Vokonas, y col., 1996; Rossi, 1997). Estas complicaciones cardiovasculares se relacionan con los clásicos factores de riesgo vasculares, esencialmente la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial y el hábito tabáquico. Tanto los diabéticos diagnosticados como las personas con tolerancia disminuida a la glucosa, las cuales tienen un alto riesgo de desarrollar DMNDI (Alberti, 1996), presentan más factores de riesgo cardiovasculares que la población normal, mostrando mayores tasas de hipertensión arterial, más alto el IMC, el cociente cintura/cadera, el nivel de triglicéridos y de insulina en ayuno. Tendencias opuestas se observan para la HDL-colesterol (Koivisto y col., 1996). También parece claro que una alta concentración de Lp(a) es un factor de riesgo independiente para enfermedad cerebrovascular en mujeres y hombres con DMNDI (Miyao y col., 1997), y que los diabéticos tienen niveles más altos de fibrinógeno que los sujetos normales (Rodríguez y col., 1996). Es conocido que la herencia de parámetros de riesgo cardiovasculares no aumenta en sujetos con una susceptibilidad incrementada a la DMNDI, como queda demostrado en un estudio realizado sobre gemelos con una historia familiar de DMNDI (Bo y col., 1997). Sin embargo, para cualquier nivel de estos factores, el riesgo es mucho mayor que en los sujetos no diabéticos, indicando que la diabetes por sí misma confiere un riesgo adicional. En este sentido, Schernthaner (1996) señala que la proporción de muerte cardiovascular es 4,4 veces mayor en los pacientes con DMNDI que no presentan ninguno de los factores de riesgo clásicos (hipertensión, hipercolesterolemia o tabaquismo) comparado con sujetos control de la misma edad. Por lo tanto en los diabéticos existe un "exceso de riesgo" que podría estar condicionado en buena parte por la dislipemia, cuya frecuencia ha sido cifrada por los diversos estudios epidemiológicos entre 2 a 4 veces superior a la existente en la población adulta no diabética (Garg y col., 1990).

La hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina se han asociado fuertemente con el desarrollo de DMNDI (Haffner, 1996), lo que sugiere un proceso de dos pasos en la historia natural de la enfermedad, es decir una resistencia a la insulina "compensada" seguida de un fallo en la respuesta secretora de insulina conduciendo a hiperglucemia (fase diabética). Aunque la relación de insulina con enfermedad cardiovascular en la población general es algo controvertida, la insulina está claramente relacionada con múltiples factores de riesgo cardiovasculares (especialmente triglicéridos elevados, HDL baja, LDL de pequeño tamaño, tolerancia disminuida a la glucosa e incremento del inhibidor del activador del plasminógeno

tisular (PAI-1). Los marcadores de resistencia a la insulina representan factores de riesgo adicionales de enfermedad cardiovascular y de mortalidad, tanto en diabéticos (Haffner, 1997; Pomtiroli y col., 1998) como en sujetos normales (Mykkänen y col., 1997; Bloomgarden, 1998). Por este motivo algunos autores sugieren que las complicaciones cardiovasculares asociadas con DMNDI se originan a partir de la fase inicial "prediabética" (Fontbonne, 1996).

Existe gran controversia sobre la verdadera importancia del control de la glucemia de sujetos diabéticos para la prevención del desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Algunos autores aseguran que el control de la glucemia, tanto con agentes orales como con insulina, no se anticipa eficazmente al desarrollo o complicaciones de la aterosclerosis en individuos diabéticos (Vokonas y col., 1996). Sin embargo los factores cardiovasculares convencionales se asocian independientemente con enfermedad cardiovascular, por lo que resulta fundamental corregir estos factores de riesgo coexistentes para así conseguir reducir las posibles complicaciones ateroscleróticas (Meigs y col., 1997). Otros autores discrepan parcialmente con esta observación y aseguran que el control de la glucemia es un predictor importante para morbilidad y mortalidad de enfermedad cardiovascular en individuos con DMNDI. Aunque también señalan que su incidencia solamente es baja en los pacientes que presentan un valor de hemoglobina glicosilada (HbA1C) inferior a 6,0% (Scherthaner, 1996). Agardh y col. (1997) no encontraron relación entre los niveles de HbA1C y la morbilidad y mortalidad por enfermedad cardiovascular. En general se puede decir que el buen control de la glucemia reduce el riesgo de complicaciones microvasculares en DMNDI, y probablemente en DMNDI, pero no se dan tales evidencias en el caso de complicaciones macrovasculares (Stern, 1998).

Surge un dilema sobre si el control de la glucemia con insulina puede asociarse con factores de riesgo cardiovasculares, incluyendo el síndrome de resistencia a la insulina. En este sentido (Balkau y col., 1998) estudiaron una población de diabéticos tipo 1 de edades entre 6 y 18 años y sólo encontraron asociación positiva y significativa entre las concentraciones de triglicéridos y la dosis diaria de insulina. En las personas cuya glucemia se pueda controlar con agentes hipoglucemiantes orales es aconsejable su uso, ya que estos fármacos no aumentan e incluso pueden disminuir las concentraciones de insulina, evitándose así sus posibles efectos aterogénicos producidos por su acción directa sobre la pared vascular y de modo indirecto modificando negativamente los lípidos sanguíneos (Zavoroni y col., 1989; Sanz Ortega y col., 1990).

Como ha sido mencionado, la dislipemia que acompaña a la diabetes es la

principal responsable del riesgo cardiovascular que presentan estos sujetos. En este sentido varios autores han demostrado que el tratamiento de esta dislipemia resulta muy eficaz en la reducción de la incidencia de enfermedades cardiovasculares en enfermos diabéticos (Lehto y col., 1997; Elkeles y col., 1998). A continuación se desarrollan las principales características del trastorno en el metabolismo lipídico y lipoproteico padecido por individuos diabéticos.

La hipercolesterolemia es algo más frecuente que en la población general, sobre todo en los diabéticos mal compensados (Harris, 1991; Stern y col., 1991). Se ha comprobado que los hombres adultos que sufren diabetes e hipercolesterolemia tienen severamente comprometida su supervivencia (Adlerberth y col., 1998).

La hipertrigliceridemia es la alteración lipídica más frecuente en la DMNID. Este aumento de triglicéridos, fundamentalmente de VLDL, se debe sobre todo a un incremento de su síntesis hepática, aunque con frecuencia colabora también una disminución de su aclaramiento. El aumento de producción está relacionado con el mayor flujo de sustratos (glucosa y ácidos grasos libres) hacia el hígado, pero también puede colaborar la hiperinsulinemia o la resistencia a la insulina. La disminución del catabolismo se debe a un déficit de LPL inducido por la alteración en la secreción de insulina o en la respuesta periférica a la misma (González Santos y col., 1994).

Probablemente los triglicéridos no son directamente aterogénicos (Grundy y col., 1992). Su intervención debe ser indirecta, tal vez por las variaciones inducidas en la composición y estructura de las diversas fracciones lipoprotéicas, y por otras consecuencias metabólicas tales como aumento de la lipidemia posprandial (Cuadro 6).

<b>MECANISMOS ATEROGENICOS DE LA HIPERTRIGLICERIDEMIA DIABÉTICA</b>	
<b>Modificaciones de VLDL</b>	
	Variaciones de tamaño
	Aumento del contenido en colesterol
	Aumento del contenido en apo E
	Cúmulo de remanentes (IDL)
<b>Modificaciones de LDL</b>	
	Aumento de partículas pequeñas y densas
	Glucosilación de apo B
	Oxidación lipoproteica
<b>Disminución de colesterol HDL</b>	
<b>Hiperlipidemia posprandial</b>	
<b>Hipercoagulabilidad</b>	

**Cuadro 6.** Mecanismos aterogénicos de la hipertrigliceridemia diabética. Adaptado de González-Santos y col., (1997).

También la hipertrigliceridemia puede inducir alteraciones en el sistema de la coagulación y hemostasia que determinen una tendencia trombogénica. Existen varios estudios que sugieren que la hipertrigliceridemia puede acompañarse de aumento del factor VII, del inhibidor del activador del plasminógeno tisular, de la actividad del factor X, así como de un aumento de la generación de fibrinógeno y trombina que es inducido por los peróxidos lipídicos (Grundy y col., 1992).

Aunque en series seleccionadas de diabéticos bien controlados, sin obesidad ni aumento marcado de triglicéridos, se encuentran valores similares de HDL-colesterol a los de la población no diabética (Steiner, 1994), lo más habitual es encontrar una disminución de su concentración plasmática, que constituye la segunda alteración lipídica en orden de frecuencia en la DMNID.

En cuanto a las alteraciones que se producen sobre las lipoproteínas, en la diabetes la alteración más frecuente es la presencia de muchas moléculas de VLDL de gran tamaño que, como contienen gran cantidad de apo E, pueden aumentar su captación por los macrófagos e inducir ateromatosis (Grundy y col., 1992; Patti y col., 1991).

Otra alteración posible es la acumulación de remanentes de VLDL (beta-VLDL) determinada por la disminución del catabolismo de los triglicéridos endógenos y por el aumento de la glucosilación no enzimática de apo E y apo B, que dificulta la captación hepática de estos remanentes. Estas partículas son muy aterogénicas porque son muy pequeñas y penetran fácilmente en la pared arterial, están enriquecidas en ésteres de colesterol que transportan al interior de la pared, y contienen gran cantidad de apo E que facilita su unión a los receptores de macrófagos promoviendo la formación de células espumosas. Por este motivo, probablemente, las VLDL de diabéticos hipertrigliceridémicos tienen un potencial aterogénico mayor que en otras formas de hipertrigliceridemia.

En la diabetes las LDL sufren al menos tres cambios que pueden hacerlas más aterogénicas: a) aumento de la heterogeneidad de las partículas de LDL, es decir, polidispersión con aumento de las partículas más pequeñas y densas, una alteración que determina un mayor riesgo cardiovascular bien sea porque penetran más fácilmente dentro de la pared arterial o porque son más susceptibles a las modificaciones químicas (Austin y col., 1990). Esta alteración es consecuencia de la hipertrigliceridemia (Lahdenpera y col., 1995). El aumento de los triglicéridos vehiculizados por las VLDL puede incrementar la transferencia de ésteres de colesterol y triglicéridos entre VLDL y LDL por medio del CETP, con lo que las LDL se enriquecen en triglicéridos y constituyen un buen sustrato para la acción de la lipasa hepática, que hidroliza los triglicéridos de las LDL dando lugar a la

formación de partículas de LDL pequeñas y densas (Zambon y col., 1993); b) glucosilación no enzimática de la apo B de LDL, que ocurre tanto en pacientes diabéticos como en individuos con intolerancia glucosada, y tiene relevancia en el proceso de aterosclerosis a través de varios mecanismos (Bowie y col., 1993; Lyons, 1993); c) oxidación de las LDL, alterándose tanto el componente lipídico como el proteico de estas partículas. Las LDL oxidadas se han aislado en las placas ateromatosas, y actualmente se les concede una gran importancia en el proceso de alteración vascular (Lyons, 1993; Rifici y col., 1994).

La principal alteración que sufre la HDL es la disminución de su contenido en colesterol (González Santos, 1988). Lo referido parece ser consecuencia de la hipertrigliceridemia probablemente por intercambio de ésteres de colesterol de HDL con triglicéridos de VLDL, resultando una molécula de HDL deplecionada en colesterol y enriquecida en triglicéridos. La hipertrigliceridemia puede también acelerar el catabolismo de apo AI lo que determinaría también una disminución del HDL-colesterol (Grundy y col., 1992). En ocasiones los niveles de HDL-colesterol permanecen bajos después de corregir la hipertrigliceridemia y la hiperglucemia, por lo que se ha especulado con otras posibilidades patogénicas ligadas directamente a la enfermedad diabética: a) aumento de actividad de la lipasa hepática, y b) efecto directo de la hiperinsulinemia, puesto que se ha observado en estas circunstancias una relación inversa de los niveles plasmáticos de insulina y péptido C con el de HDL-colesterol (Betteridge, 1988). Pueden existir también alteraciones que no afectan a la concentración del colesterol transportado por las HDL pero sí a su naturaleza. En diabéticos tratados con insulina se ha encontrado elevada la relación colesterol libre/lecitina, una alteración que puede conllevar un mayor riesgo cardiovascular (Manninen y col., 1989).

En los diabéticos el acúmulo posprandial de lipoproteínas ricas en triglicéridos es mayor que en los sujetos normales. Existen bastantes evidencias de que el cúmulo de lipoproteínas posprandiales puede intervenir en la patogenia de la arteriosclerosis, tanto en la población general como en diabéticos. Syväne y col. (1994) sugieren que la aterogenicidad vendría dada por la composición de las lipoproteínas posprandiales más que por la cantidad de las mismas; el enriquecimiento en apo E podría tener consecuencias aterogénicas, bien por el hecho de que su glucosilación en el diabético disminuiría la afinidad por el receptor hepático de apo E o bien porque los remanentes ricos en apo E, inducirían la formación de células por la vía del macrófago (Syväne y col., 1994).

#### 1.2.4.1.5. Algunas dislipemias

La asociación entre las anomalías de los lípidos plasmáticos (dislipemias) y la enfermedad cardiovascular es un hecho irrefutable (Keys, 1970; Dawber, 1980; Kannel, 1989), ya que grandes estudios epidemiológicos así como otros de intervención lo han demostrado. Entre los primeros, el *Multiple Risk Factor Intervention Trial* (MRFIT) refleja un importante aumento de las curvas de mortalidad entre los varones de raza blanca de mediana edad cuando la hipercolesterolemia se elevaba por encima de los valores de 200 mg/dL (Kannel y col., 1986).

En el estudio de Framingham se pudo ver que la incidencia de enfermedad coronaria para varones de 45 a 54 años de edad pasaba de 56,8 por 100.000 cuando las colesterolemias eran inferiores a 189 mg/dL hasta 183,2 por 100.000 cuando las cifras eran de 310 mg/dL (Castelli, 1983).

En el *Pooling Project* obtenido de datos procedentes de otros estudios y sobre 8.000 varones de raza blanca se dedujo que la enfermedad coronaria duplicaba su prevalencia entre aquellos que tenían colesterol superior a 268 mg/dL con relación a los que lo tenían igual o menor que 218 mg/dL (The Pooling Project Research Group, 1978).

Una evidencia que destaca el peso del perfil lipídico como un factor de riesgo cardiovascular es la que se deriva de estudios hechos sobre ciudadanos procedentes de países con tasas bajas de enfermedad cardiovascular, como los japoneses. Estos sujetos cuando emigran a países con alta incidencia de aterosclerosis, al adquirir los hábitos de vida del país de acogida, modifican de modo paralelo sus perfiles de lípidos plasmáticos y sus tasas de morbilidad por enfermedades cardiovasculares hasta alcanzar las mismas que las del país al que emigran (Keys, y col., 1958).

Dentro de los desórdenes lipídicos la hipercolesterolemia se muestra como un factor de riesgo cardiovascular bien establecido, especialmente para enfermedad coronaria (Wise y col., 1996; Foubert y col., 1997). También se ha relacionado a la hipercolesterolemia con la trombosis de las venas profundas (Kawasaki y col., 1997).

En general se puede asegurar que la correlación entre colesterol del suero y la incidencia de enfermedad cardiovascular es continua para niveles superiores a 200 mg/dL, con una pendiente progresivamente creciente y paralela a la de la mortalidad global (Kannel, 1989; Dawber, 1980; Castelli, 1984).

Los estudios de intervención, por otra parte, han venido a demostrar la reducción del riesgo de enfermedad coronaria consecutiva a la disminución de la colesterolemia. Así, el *Lipid Research Clinics Program* (1984) que recopiló los casos de 3.806 varones de edad media llegaba a la conclusión de que una reducción del 1% de colesterol total se correspondía

con un 2% de reducción del riesgo de enfermedad coronaria.

Más recientemente, el estudio WOS ha demostrado una reducción de la enfermedad coronaria en un 34% entre unos 6.000 varones hipercolesterolémicos de edad media cuando su colesterolemia elevada se reduce con la administración de paravastatina (Shepherd y col., 1995).

Vogel (1997) señala que la función endotelial mejora cuando se reduce la concentración de colesterol sanguíneo en pacientes con hipercolesterolemia marcada.

De las proteínas que transportan los lípidos en la sangre la fracción LDL es la más aterogénica. El nivel elevado de LDL-colesterol es uno de los pocos factores de riesgo para los que existen evidencias de estar involucrado en la disfunción endotelial, proliferación de las células del músculo liso, desestabilización de la placa ateromatosa y trombosis (Pearson y col., 1996). Actualmente está ampliamente reconocida la heterogeneidad en el tamaño y densidad de las partículas LDL. Estudios epidemiológicos, estudios de familias y de gemelos demuestran que las LDL pequeñas y más densas (fenotipo B de LDL o LDL-III) influyen genéticamente en el riesgo de enfermedad coronaria. Se han propuesto varios mecanismos aterogénicos para explicar la asociación de las LDL pequeñas con la enfermedad coronaria, incluyendo que esta subclase de LDL es una característica integral del síndrome de resistencia a la insulina (Austin, 1996) y son las que aparecen con mayor frecuencia entre varones y enfermos coronarios (Ronald y col., 1991).

Está comprobado epidemiológicamente que el control del colesterol plasmático y LDL-colesterol reduce la morbimortalidad cardiovascular (Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group., 1982; Lipid Research Clinics Program., 1984b). Así, el estudio de prevención primaria coronaria demostró que el descenso del 9% en el nivel plasmático de colesterol y del 12% en el de LDL-colesterol condujo a una reducción del 19% de los infartos agudos de miocardio y de la mortalidad por cardiopatía isquémica y que, simplificada, un descenso del 1% en el colesterol plasmático aportaba una reducción de un 2% en la tasa de cardiopatía isquémica (Lipid Research Clinics Program., 1984b).

En cuanto a la Lp(a), hay estudios que la señalan como un factor de riesgo independiente de infarto cerebral y de enfermedad arterial coronaria (Sameshima y col., 1997). Esta lipoproteína es aterogénica y trombogénica (Loscalzo, 1990).

Las VLDL transportan principalmente triglicéridos y un 10-15% del colesterol plasmático total. Su importancia como factor de riesgo disminuye cuando se corrige respecto del colesterol plasmático total y del HDL-colesterol. Estudios realizados con ratones transgénicos indican que las HDL son directamente antiaterogénicas. El mecanismo por el

cual ejercen esta protección es desconocido, aunque se sabe que está relacionado con el transporte del colesterol plasmático (Barter y col., 1996). Los niveles bajos de HDL-colesterol son un factor predictivo de enfermedad cardiovascular muy importante como se deduce de un estudio llevado a cabo por Weber y col. (1997), quienes en una población de hombres y mujeres con enfermedad cardíaca prematura determinaron la prevalencia de desórdenes de lipoproteínas, apolipoproteínas y desórdenes metabólicos frente a un grupo control. Los autores concluyeron que la HDL y la Lp(a) eran los mejores marcadores metabólicos de enfermedad cardíaca prematura. Las HDL transportan el 20-25% del colesterol plasmático; cuanto más colesterol se una a ellas (principalmente en su fracción HDL<sub>2</sub>) menor será el riesgo de enfermedad cardiovascular (Castelli, y col., 1986). Es posible que las diferentes subpoblaciones de HDL tengan distinta capacidad protectora frente a la enfermedad coronaria.

También se ha comprobado la eficacia de reducir los niveles de LDL-colesterol y aumentar la tasa de HDL-colesterol. En el *Helsinki Heart Study* (Manninen, 1983), que incluía a 2.000 varones de hiperlipidemias (tipo II o tipo IV), el tratamiento con genfibrocilo redujo un 9% el colesterol LDL y elevó un 10% el colesterol HDL con lo que la incidencia de enfermedad coronaria se redujo en un 34%.

Últimamente varios autores destacan el valor predictivo de algunos cocientes lipídicos. Criqui y col. (1998) señalan al cociente colesterol total/HDL-colesterol como el principal factor lipídico predictivo, incluso en personas mayores. Expertos del *Dyslipidemia Working Group pf Health Canada* revisaron las recomendaciones para el manejo médico de los desórdenes lipídicos, y menospreciaron el valor del colesterol plasmático total frente al del LDL-colesterol o al cociente triglicéridos/HDL-colesterol (Frohlich y col., 1998).

Es importante destacar la relación de las apolipoproteínas con la aterosclerosis. Existen datos de que la apo B ha mostrado correlación positiva con la incidencia de cardiopatía isquémica mientras que la apo AI se ha mostrado como protectora y su defecto en cambio podría tener un valor predictivo importante en el infarto de miocardio, superior incluso al valor predictivo de las tasas reducidas de HDL-colesterol (Avogaro y col., 1982; Havel, 1987). Gómez-Barrado y col. (1996) señalan que los niveles elevados de apo B100 son el parámetro lipídico que mejor predice la presencia de enfermedad coronaria crónica.

La tasa de trigliceridemia constituye también un factor de riesgo, aunque aún se mantiene en discusión si puede considerarse riesgo independiente. El papel de la hipertrigliceridemia en la causalidad de enfermedad arterial coronaria permanece sin dilucidar. Sin embargo, se puede asegurar que es un marcador de varios factores



aterogénicos, entre los que se incluyen: concentraciones elevadas de lipoproteínas aterogénicas ricas en triglicéridos, el fenotipo lipoproteico aterogénico, o la triada lipídica y el síndrome metabólico. La triada lipídica consiste en triglicéridos séricos elevados, partículas LDL de pequeño tamaño y bajo nivel de HDL-colesterol. El síndrome metabólico incluye la coexistencia de la triada lipídica, presión sanguínea elevada, resistencia a la insulina (más intolerancia a la glucosa) y un estado protrombótico (Grundy, 1998). Davignon y col. (1996) aseguran que la fuerza de los triglicéridos para predecir enfermedad cardiovascular radica en su capacidad para reflejar la presencia de lipoproteínas remanentes aterogénicas ricas en triglicéridos. Estas lipoproteínas son potencialmente aterogénicas, como se deduce de los estudios de intervención angiográfica en los que se ha comprobado la implicación de dichas lipoproteínas en la progresión de la enfermedad aterosclerótica independientemente de las LDL.

En la práctica clínica un nivel alto de triglicéridos se asocia frecuentemente con una reducción de las tasas de HDL. Jeppesen y col. (1997) señalan que la existencia conjunta de niveles altos de triglicéridos y bajas concentraciones de HDL-colesterol, dislipemia característica de sujetos con resistencia a la insulina, es un factor de riesgo cardiovascular al menos tan poderoso como la tasa de LDL-colesterol. La hipertrigliceridemia, particularmente cuando se asocia con concentraciones bajas de HDL-colesterol y con obesidad abdominal o visceral, es un fenotipo altamente aterogénico (Lamarche y col., 1998). Es posible que el metabolismo inadecuado de partículas VLDL repercuta en una menor síntesis de HDL. Éstas, por otro parte, cuando resultan enriquecidas en triglicéridos acaban siendo un excelente sustrato para la lipasa hepática que las puede transformar en otras más pequeñas y densas, fácilmente retiradas de la circulación con lo que también su catabolismo resulta aumentado.

Asimismo, en las situaciones de hipertrigliceridemia se ha demostrado una afinidad reducida de las partículas LDL hacia los receptores por lo que la hipertrigliceridemia podría acompañarse de un exceso de LDL circulantes, con su correspondiente riesgo (Kleinman y col., 1985). En este sentido Krauss (1998) asegura que el metabolismo alterado de los triglicéridos conduce a cambios lipoproteicos entre los que se encuentra el incremento de partículas LDL pequeñas, que como se ha demostrado son las subclase de LDL más aterogénica.

La hipertrigliceridemia puede, por tanto, implicar un efecto directo de los triglicéridos, facilitando la internalización por macrófagos de partículas de muy baja densidad modificadas por oxidación (Parthasarathy y col., 1989). De cualquier modo, debido a las fuertes interrelaciones entre niveles altos de triglicéridos, reducidas tasas de HDL y

predominio de LDL pequeñas, es difícil usar técnicas estadísticas para determinar las contribuciones independientes de estos factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Krauss, 1998).

La primera clasificación de las hiperlipemias fue propuesta por Fredrickson, que distinguió 5 tipos basándose en el aspecto del lipidograma y en las concentraciones de colesterol y triglicéridos. La OMS desdobló el tipo II en IIa y IIb por lo que la clasificación refleja 6 fenotipos distintos de hiperlipemias (Cuadro 7).

Fenotipo	Colesterol	Triglicéridos	Electroforesis	Lipoproteínas alteradas
I	N/+	++++	Banda quilomicrones	Quilomicrones
IIa	++	τ	Banda β ++	LDL
IIb	++	++	Bandas β y preβ ++	VLDL y LDL
III	++	+	Banda β ancha	IDL (βVLDL)
IV	τ	++	Banda preβ ++	VLDL
V	++	++++	Banda preβ +++	VLDL quilomicrones

**Cuadro 7.** Clasificación fenotípica de las dislipemias. Adaptado de Gutiérrez (1994).

Sin embargo, esta clasificación fenotípica no permite abordar el mecanismo genético de las hiperlipemias. Por ello, es preferible distinguir un primer gran grupo de hiperlipemias, que se denominan primarias, por surgir como auténticas modificaciones genuinas del metabolismo de las lipoproteínas. Existe un segundo grupo, las hiperlipemias secundarias, por estar producidas, inicialmente, por una causa ajena al metabolismo lipoproteico. No obstante, no todas las hiperlipemias son igualmente aterogénicas. Así, mientras algunas de ellas como la hipercolesterolemia familiar monogénica o la hiperlipemia familiar combinada se asocian a un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular, otras como el déficit familiar de LPL no parecen ser aterógenas. En el Cuadro 8 se muestra la clasificación genética de las hiperlipemias primarias que implican riesgo cardiovascular.

Existen varios estudios que intentan determinar cual es el desorden lipoproteico más frecuente en distintas poblaciones con enfermedad coronaria prematura. En este sentido Elisaf y col. (1997) estudiaron a un colectivo del noroeste de Grecia y comprobaron que los sujetos con enfermedad coronaria prematura tenían una mayor incidencia de hiperlipemia del fenotipo IIa. Pay y col. (1997) se plantearon como objetivo definir la prevalencia de desórdenes lipoproteicos genéticos en una población de un país con bajos niveles de colesterol. Para lo que examinaron 48 pacientes con infarto de miocardio prematuro, sufrido

antes de los 55 años. Estos sujetos tenían más altos los niveles triglicéridos, LDL, apo B y Lp(a); con concentraciones bajas de apo AI respecto a los controles ( $p < 0.05$ ). El 50% de estos pacientes tenían un desorden lipoproteico familiar, siendo el exceso familiar de Lp(a) la anormalidad lipoproteica más frecuente presente en el 16% de esta población, seguido de hiperlipemia familiar combinada. Davignon y col. (1996) establecen una clara asociación entre la incidencia de enfermedad coronaria y la hiperlipoproteinemia tipo III, la cuál se caracteriza por un marcado incremento en plasma de lipoproteínas remanentes.

Alteración genética	Fenotipo	Defecto bioquímico	Riesgo	Colesterol	Triglicéridos
Hipercolesterolemia familiar	IIa	Déficit de receptores de LDL	+++	+++	N/+
Hipercolesterolemia poligénica	IIa	Desconocido, heterogéneo	+	+	N
Hiperlipemia familiar combinada	IIb (IIa)	Desconocido	++	+/N	+/N
Disbetalipoproteinemia familiar	III	Homocigoto para apo E2 + otra alteración del catabolismo de VLDL	+++	+++	++
Hipertrigliceridemia familiar	IV	Desconocido	?	+	++
Hiperlipemia mixta	V	Desconocido	++	++	+++

**Cuadro 8.** Hiperlipemias primarias (clasificación genética). Adaptado de Gutiérrez (1994).

La hiperlipemia familiar combinada, una forma frecuente de dislipemia, es una de las principales causas genéticas de enfermedad aterosclerótica prematura. Este tipo de dislipemia se caracteriza por niveles elevados de colesterol total plasmático y/o triglicéridos. En los pacientes con hiperlipemia familiar combinada predominan las subpoblaciones de LDL pequeñas y densas ( $d = 1.04-1.06 \text{ g.mL}^{-1}$ ) frente a las ligeras ( $d = 1.02-1.03 \text{ g.mL}^{-1}$ ) y las intermedias ( $d = 1.03-1.04 \text{ g.mL}^{-1}$ ) (Chapman y col., 1998). Como se ha señalado en varias ocasiones, las LDL densas son altamente aterogénicas como resultado de su baja afinidad por el receptor de LDL, su prolongada vida media en el plasma y la baja resistencia al stress oxidativo. Las LDL son retenidas en el espacio subendotelial y quedan expuestas al stress oxidativo, circunstancias que potencian su modificación biológica que conduce a su captación por parte de los macrófagos con la consecuente formación de células espumosas cargadas de lípidos.

Actualmente se desconoce cual es la mutación o mutaciones responsables del

disturbio metabólico que se produce en la hiperlipemia familiar combinada. Pero en algunos casos se ha encontrado una actividad disminuida de la LPL. Un reciente estudio reveló una mutación común en el gen de LPL, LPL(Asn 291 → Ser), con una frecuencia del 9,3% en pacientes holandeses con este tipo de dislipemia (Reymer y col., 1994). Esta mutación se encontró en 3 de las 17 familias estudiadas y afecta significativamente a los niveles de triglicéridos plasmáticos y de la VLDL, y al colesterol de la VLDL y de la HDL, pero no así al colesterol del plasma y al de la LDL. Estos hallazgos indican que la mutación de LPL(Asn291→Ser) está asociada con niveles elevados de lípidos, indicando que podría ser uno de los factores genéticos de predisposición a padecer hiperlipemia familiar combinada (Hoffer y col., 1996).

Está comprobado que con la normalización de los niveles lipídicos y lipoproteicos se consigue disminuir la morbilidad y mortalidad cardiovascular. Con la terapia de reducción de lípidos se logra la regresión de las placas ateroscleróticas, pero los cambios macroscópicos detectables angiográficamente son pequeños y por si solos no logran explicar el beneficio conseguido. Por este motivo se supone que deben producirse cambios cualitativos en la composición de las placas ateroscleróticas con los que se reduce el riesgo de su ruptura. Además, con el descenso de los lípidos se revierte la disfunción endotelial producida por la hipercolesterolemia y también se reduce la resistencia arterial periférica y la hiperinsulinemia, además de mejorar la deformabilidad eritrocitaria (Nordmann y col., 1998).

En cuanto a los tratamientos disponibles para las dislipemias y su eficacia en la prevención de la enfermedad coronaria, Borgia y col. (1998) hacen una revisión usando datos de los principales estudios, realizados en los últimos 20 años, que han evaluado la prevención primaria y secundaria de enfermedad coronaria mediante corrección de las dislipemias. Y concluyen que la dieta, en primer lugar, y las drogas hipolipemiantes son los principales instrumentos disponibles para normalizar los niveles de lípidos, consiguiendo de esta manera reducir el riesgo de desarrollo y/o progresión de enfermedad coronaria. La mayoría de las hiperlipemias responden a una reducción en el contenido de grasa saturada, de colesterol y de calorías en la dieta (Keys y col., 1965; Blankenhorn y col., 1990; Sacks y col., 1991), con un aumento en el consumo de pescado (Kromhout y col., 1985). En general, se acepta que la intervención farmacológica está indicada cuando otros tipos de tratamiento, tales como cambios dietarios y práctica de ejercicio aeróbico, fracasan en la consecución de los niveles lipídicos deseados (Brown y col., 1990; Kane y col., 1990; Marks, 1998).

Existen varios organismos internacionales que proponen sus recomendaciones sobre el nivel deseable de lípidos sanguíneos. El National Cholesterol Education Program

Adult Treatment Panel (NCEP) establece distintas metas dependiendo de las características y riesgo de los sujetos. De tal manera que en pacientes con enfermedad cardiovascular se recomienda disminuir el nivel de LDL-colesterol a 2,6 mM/L (<100 mg/dL), y en sujetos sin enfermedad cardiovascular con 2 o más factores de riesgo la meta es un nivel de LDL-colesterol no superior a 3,4 mM/L (130 mg/dL). En aquellas personas con factores de riesgo más bajos el objetivo es 4,2 mM/L (160 mg/dL). Los pacientes con triglicéridos elevados normalmente tienen bajos los niveles de HDL-colesterol y frecuentemente representan un grupo heterogéneo, por lo que merecen un tratamiento individualizado. Las líneas terapéuticas se han de centrar en la necesidad de lograr pérdida de peso y restringir la grasa dietaria total, especialmente la grasa saturada (<7% al 10% de calorías totales), el colesterol (<200 a 300 mg/día) y el aumento de la práctica de ejercicio (Kashyap, 1997).

En el Cuadro 9 se muestran las recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis, así como las de otros autores.

Riesgo global	Objetivo*	
	Colesterol	LDL-C
Ligero Colesterol: 200-300 mg/dL SIN otros factores de riesgo Colesterol/HDL-C: 4,5-5,0	195-230	155-175
Moderado Colesterol: 200-300 mg/dL CON un factor de riesgo o CON HDL-C < 39 mg/dL	195	135-155
Alto Enfermedad vascular coronaria, o Hipercolesterolemia familiar o Colesterol: >300 o Colesterol: 200-300 + dos factores de riesgo, o Colesterol: 200-300 + un factor de riesgo severo	175-195	115-135**

**Cuadro 9.** \* Recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis de 1992. \*\* Muchos autores sitúan este objetivo en 95-115 mg/dL en pacientes con enfermedad coronaria. Tomado de Gutiérrez (1994).

#### 1.2.4.1.6. Personalidad

Hay diversas publicaciones que demuestran la asociación de enfermedad cardiovascular con ansiedad, stress, movilidad social y falta de adaptación (Kannel y col.,

1986). Numerosos estudios epidemiológicos han encontrado asociación entre depresión y desarrollo de enfermedades cardiovasculares, pero se desconoce la base de esta relación. Glassman y col. (1998) señalan que los principales responsables de esta asociación son los cambios, que acompañando a la depresión, se producen sobre el sistema nervioso autónomo y las plaquetas. Concretamente se puede afirmar que el stress mental facilita la isquemia miocárdica, y como consecuencia del mismo se producen respuestas hemodinámicas que se relacionan con la progresión de aterosclerosis y ensanchamiento ventricular izquierdo (Spence, 1997).

Con todo, la mayor atención ha sido prestada a un tipo peculiar de comportamiento que se llama personalidad tipo A, cuyas características son competitividad, impaciencia, agresividad, ambición, lenguaje y mímica bruscos o tensos (Kannel, 1989; Oberman, 1989). En este sentido Miller y col., (1996) trabajaron con estudiantes que tenían patrones de hostilidad expresiva y neurótica, y encontraron que en los primeros se producían repuestas hemodinámicas consistentes con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y en los segundos las respuestas se relacionaban con mayor riesgo de hipertensión arterial.

Podemos concluir que el riesgo de ciertos eventos cardiovasculares podría reducirse modificando el estilo de vida de los individuos. Sin embargo sólo un pequeño porcentaje de sujetos logran adoptar tales cambios. Banks y col. (1996) sugieren que a partir del estudio de los perfiles psicológicos se pueden identificar los cambios de estilo de vida que un individuo puede adoptar fácilmente.

#### **1.2.4.2. Modificables**

##### **1.2.4.2.1. Tabaquismo**

Es una de las causas de morbilidad más sencillas de prevenir. La relación del consumo de cigarrillos con la incidencia de enfermedad cardiovascular es inequívoca (Del Río, 1991), teniendo un patrón dosis-respuesta entre la intensidad del consumo de tabaco, la duración del mismo y la enfermedad cardiovascular (Hjermann y col., 1981). El uso habitual del tabaco tiene un efecto directo sobre el riesgo de aneurisma aórtico (Lee y col., 1997) y duplica el riesgo de mortalidad cardiovascular, especialmente en jóvenes, sin que haya diferencias entre hombres y mujeres. Los cigarrillos con filtro (Castelli y col., 1981) o bajos en nicotina o en alquitrán no han logrado reducir el riesgo cardiovascular (Palmer y col., 1989). La coincidencia de otros factores de riesgo, como la hipertensión o la

hipercolesterolemia, multiplica el riesgo (Kannel, 1977). Heitzer y col. (1996) demostraron que el consumo de tabaco y la hipercolesterolemia actúan sinérgicamente dañando la función endotelial, y su presencia combinada se asocia con un incremento de los niveles plasmáticos de anticuerpos frente LDL oxidada. En las mujeres este riesgo se potencia si fuman y concurrentemente toman anticonceptivos hormonales.

La nicotina activa el sistema nervioso simpático y en este sentido podría contribuir al desarrollo de patologías cardiovasculares. Presumiblemente, como consecuencia de la estimulación simpática y la liberación de catecolaminas, la nicotina posee efectos hemodinámicos que pueden facilitar sucesos cardiovasculares agudos. Sin embargo, estudios clínicos realizados con fumadores de pipas y personas que utilizan parches de nicotina apoyan la idea de que en el humo del tabaco existen otras toxinas más responsables que la nicotina del desarrollo de trastornos cardiovasculares agudos (Benowitz, 1997). Benowitz y col. (1997) apoyan la idea de que la nicotina no incrementa el riesgo cardiovascular, tras los resultados obtenidos en ensayos clínicos de terapia de reemplazamiento con nicotina en pacientes con enfermedad coronaria subyacente o establecida. Por lo tanto, la nicotina no parece aumentar la trombosis en humanos y es muy probable que el incremento de la incidencia de enfermedades cardiovasculares en fumadores sea causada por otros componentes del humo del tabaco (Bolinder y col., 1997).

En general, los fumadores tienen un índice HDL-colesterol/LDL-colesterol más bajo que los no fumadores (Mjos, 1988). Por otra parte el tabaco aumenta la producción plaquetaria de factores promotores de la proliferación y migración de células musculares lisas (Holbrook y col., 1984), altera el perfil lipídico, disminuye la fibrinólisis (Veyssier, 1997), altera el equilibrio entre el tromboxano A<sub>2</sub> y la prostaciclina (Nowak y col., 1987), lo que trastorna claramente la función endotelial, hecho bien conocido en los fumadores (Highmana y col., 1993, Moliterno y col., 1994; Lekakis y col., 1998). Por último, el monóxido de carbono podría actuar como un tóxico endotelial mantenido que facilitaría la oxidación de las LDL por contacto con ese endotelio dañado, estimulando de este modo su acumulación a nivel subendotelial (Henriksen y col., 1981; Vruwink y col., 1996). En este sentido, Pech Amsellem y col. (1996) estudiaron las modificaciones de la LDL por cultivo con células endoteliales de la vena umbilical de mujeres fumadoras y no fumadoras, y observaron que la conversión de LDL nativa hacia formas de LDL aterogénicas era significativamente mayor en el caso de las fumadoras. Por otro lado el tabaco aumenta las tasas de fibrinógeno plasmático circulantes (Meade y col., 1987), y es bien conocido que la hiperfibrinogenemia es un factor de riesgo (Kannel y col., 1992). El uso de cigarrillos también causa un desbalance entre

demanda y oferta tisular de oxígeno y mayor susceptibilidad a las arritmias cardíacas.

Es importante destacar que los fumadores pasivos sufren también los efectos adversos del humo del tabaco, ya que tienen mayor riesgo de mortalidad y morbilidad por enfermedad cardíaca que los sujetos no fumadores que no están expuestos al humo del tabaco (Veyssier, 1997). Howard y col. (1998) señalan que tanto los fumadores pasivos como los activos tienen aumentado el índice de progresión de aterosclerosis. Existen distintas teorías sobre la base fisiopatológica de este hecho. Valkonen y col. (1998) observaron que la continua exposición al humo del tabaco de sujetos no fumadores induce la aceleración de la peroxidación lipídica, la modificación de LDL y la acumulación de LDL-colesterol en macrófagos de humanos. Sin embargo Oguogho y col. (1996) aseguran que la exposición pasiva durante 3 a 5 horas al humo del tabaco no induce oxidación relevante de la LDL. Por otro lado, Kritz y col. (1996) atribuyen a la activación de las plaquetas el deterioro vascular observado en fumadores pasivos.

En cuanto a los beneficios obtenidos con el abandono del uso del tabaco, estudios caso-control (The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group, 1990) han establecido que los exfumadores tenían un riesgo similar a los no fumadores a los tres años de haber abandonado el hábito, en tanto que el riesgo de los que seguían fumando era tres veces mayor que el de los no fumadores. Entre los estudios de intervención cabe destacar el estudio Whitehall (Rose y col., 1986), por ser el único que analiza el efecto de la suspensión del tabaco sobre la mortalidad por enfermedades cardiovasculares como única intervención. En este trabajo se comprobó que había una reducción del 19% de la mortalidad coronaria en el grupo de intervención con respecto al resto.

En resumen, se puede decir que la suspensión del tabaco reduce claramente el riesgo de eventos coronarios, tanto en prevención primaria como secundaria, y que la caída del riesgo ocurre de forma muy rápida, generalmente en un 50% en el primer año, y que posteriormente el riesgo se va igualando con los no fumadores de forma gradual en unos dos años, y el tiempo se prolonga en los pacientes en prevención secundaria y en los grandes fumadores. Sin embargo, el dejar el uso del tabaco es difícil, de los que lo intentan un 80% tienen un éxito a corto plazo, pero recaen y tan sólo un 30% mantienen a largo plazo su decisión (Oberman, 1989). Estos fumadores, incapaces de abandonar su adicción, podrían ser animados a sustituir el tabaco por aerosoles, parches o chicles de nicotina, y recomendarles el uso de suplementos de aceite de pescado rico en w-3 y otros nutrientes cardioprotectores que pueden corregir o compensar un número importante de efectos adversos producidos por el uso del tabaco (McCarty, 1996).



1.2.4.2.2. Hipertensión arterial

En una persona adulta (edad igual o mayor de 18 años) la hipertensión arterial viene definida por el hallazgo de cifras de presión iguales o superiores a 140/90 mm Hg (Control de la Hipertensión Arterial en España, 1996). La hipertensión arterial además de ser un factor de riesgo cardiovascular, es una enfermedad en sí misma (Hansson, y col., 1984), mostrándose como un indicador de riesgo para la supervivencia. La hipertensión arterial es causa frecuente de insuficiencia cardíaca en el adulto en la mayoría de los países y favorece otras enfermedades cardiovasculares y renales (Birkenhäger y col., 1985; Rey Calero, 1989; Balaguer, 1990). Para cualquier edad y ambos sexos hay una correlación casi lineal entre la hipertensión arterial y el riesgo de enfermedad vascular; su mayor impacto es en la aparición de accidentes cerebrovasculares y algo menor en la cardiopatía isquémica y en la arteriopatía periférica (Kannel, 1989; Dzau, 1990). El peso de la hipertensión arterial sobre la mortalidad cardiovascular es difícil de medir y probablemente está infravalorado por los datos de que se dispone. No obstante, se estima que al menos el 25% de las muertes cerebrovasculares son atribuibles a este factor de riesgo en individuos españoles adultos (Luque, 1995). En el contexto internacional España ocupa una posición intermedia respecto a los otros países occidentales en lo que respecta a la mortalidad cerebrovascular (García-Benavides y col., 1993).

El riesgo vascular tiene relación con la elevación de la presión sistólica y diastólica, siendo las mujeres quienes toleran mejor la hipertensión arterial. Las recomendaciones más recientes sobre diagnóstico y manejo del hipertenso aconsejan valorar conjuntamente las cifras de presión arterial sistólica y diastólica en cualquier caso, y en el individuo de más de 60 años se debe poner especial énfasis en diagnosticar y tratar adecuadamente la hipertensión arterial sistólica aislada, ya que ésta es el único factor de riesgo vascular que mantiene su valor predictivo con la edad, a diferencia del colesterol y de la presión arterial diastólica (Fischer, 1985; Birkenhäger y col., 1988; Applegate, 1992; Joint National Committee, 1993). El estudio de Framingham demostró que la tensión sistólica mayor de 160 mm Hg y/o la diastólica superior a 95 mm Hg triplicaban el riesgo de enfermedad vascular (Kannel, 1989). Los altos valores de presión arterial aceleran el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas subyacentes y desestabilizan las lesiones vasculares precipitando los eventos vasculares agudos (Weber, 1996).

La eficacia en el control de la hipertensión arterial ha sido demostrada por

diversos trabajos, con excelentes resultados en la prevención de ictus, fracaso renal e insuficiencia cardíaca congestiva (Stamler y col., 1984; Mac Mahon y col., 1986). En los últimos 20 años las tasas de mortalidad cardiovascular ajustadas por edad, especialmente por enfermedades cerebrovasculares y coronarias, han venido disminuyendo en todas las comunidades españolas (Regidor y col., 1993; De los Reyes y col., 1994), este descenso ha discurrido en paralelo con un progresivo mejor manejo de la hipertensión arterial. Sin embargo, los beneficios sobre la cardiopatía isquémica no han sido tan evidentes, lo cual se ha puesto en relación con alteraciones del perfil lipídico, como efecto secundario de algunos fármacos hipotensores, que contrarrestaría el efecto benéfico del control en las cifras tensionales (Weinberger, 1988; Morgan, 1990; Del Río, 1991). Por tal motivo se han desarrollado diversas estrategias para el control no farmacológico de la hipertensión arterial, como dietas tendentes a reducir el sobrepeso y la ingesta excesiva de sodio, con incremento en la toma de potasio (Abellán y col., 1991); son estudios de actualidad los que versan en la influencia de la ingesta de calcio y magnesio en la presión sanguínea (Baños Gallardo y col., 1991). Se ha estudiado también cuáles son los fármacos hipotensores que no influyen en el perfil lipídico incluso los que lo modifican de forma favorable (Del Río, 1991).

También se conoce que la hipertensión arterial aumenta la probabilidad de enfermedad cardiovascular si coexiste con otros factores de riesgo (Kannel, 1989), y que existen relaciones patogénicas entre anomalías en el metabolismo hidrocarbonado, lipoproteico e hipertensión arterial, como son la insulino-resistencia, la hiperinsulinemia y la hipertrigliceridemia de los hipertensos no tratados (Williams y col., 1988; Swilocki y col., 1989; Reaven, 1990; Sánchez y col., 1991). En el estudio Al Andalus 1990 se estimó la coexistencia de diversos factores de riesgo en la población hipertensa resultando que existía hipercolesterolemia en el 31,4% de los hipertensos, diabetes mellitus en el 10,4% y obesidad en el 33%, cifras significativamente mayores que las presentes en no hipertensos (Aranda y col., 1993). La disfunción endotelial, la proliferación de células musculares lisas, el acúmulo lipídico en las llamadas células espumosas, el incremento en el tono vascular, son todos los factores patogénicos que coinciden y amplifican el proceso ateromatoso en sujetos portadores de los mencionados factores de riesgo (Dzau, 1990).

#### 1.2.4.2.3. Actividad física

El ejercicio practicado de forma regular tiene efectos beneficiosos sobre la función cardiovascular y calidad de vida, con reducción en la morbilidad y mortalidad por

enfermedad cardiovascular (Francis, 1996). Estos resultados favorables se consiguen en todos los grupos de población, hombres y mujeres de mediana edad (Dunn y col., 1997), hombres mayores de 63 años con o sin enfermedad cardiovascular diagnosticada (Wannamethee y col., 1998), hombres y mujeres sanos o enfermos crónicos mayores de 65 años (Cherubini y col., 1998), e incluso los fumadores que practican de forma regular ejercicio físico tienen disminuido su riesgo de mortalidad total y mortalidad por causas cardiovasculares (Hedblad y col., 1997). Pols y col. (1997) demostraron en una población de mujeres con edades comprendidas entre 49 y 70 años una relación inversamente proporcional entre indicadores de riesgo cardiovascular y la práctica de actividad física durante el tiempo libre, pero no así frente a la actividad laboral ni a la realización de tareas domésticas. Haapanen y col. (1996) estudiaron una población de hombres de mediana edad, y observaron que los sedentarios (cuyo gasto energético semanal en actividad física durante el tiempo libre era  $< 800$  Kcal) tenían 2,74 veces más riesgo de mortalidad total y 3,58 veces más riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares en comparación con el grupo de activos (cuyo gasto energético semanal en actividad física durante el tiempo libre era  $> 2.100$  Kcal). En general los estudios epidemiológicos indican que un estilo de vida físicamente inactivo está asociado con tres veces más riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Blair y col., 1989), siendo la magnitud del riesgo similar a la de otros factores de riesgo modificables. Incluso el ejercicio de intensidad moderada puede ser suficiente si se realiza de forma constante (Wood y col., 1991).

Los beneficios del ejercicio están en relación con el mantenimiento de un peso correcto, de una mejoría en la tolerancia hidrocarbonada y del perfil lipídico, potenciando la fibrinólisis y quizá favoreciendo un mejor control de la tensión arterial, por lo que se puede asegurar que la práctica regular de ejercicio físico puede modificar favorablemente otros factores de riesgo, aunque los beneficios son modestos. Miller y col. (1997) aseguran que con la práctica de actividad física se consiguen reducciones en la presión sistólica y diastólica de 6 a 9 mm de Hg; descenso en el colesterol plasmático total y LDL-colesterol de aproximadamente 5 a 10 mg/dL; e incremento en los niveles de HDL-colesterol de 2 mg/dL. Varios estudios muestran que la actividad física tiene una débil influencia sobre el colesterol total y LDL-colesterol, sin embargo aseguran cambios favorables y significativos sobre las concentraciones cardioprotectoras de HDL-colesterol con lo que se consigue reducir el riesgo metabólico y mejorar el perfil lipídico (Bijnen y col., 1996; Dadán y col., 1996; Raitakari y col., 1996; Berg y col., 1997). Lehmann y col. (1997) estudiaron una población de pacientes con diabetes mellitus insulino-dependiente, concluyendo que un incremento en la práctica de

actividad física es segura y no provoca más episodios de hipoglucemia. Encontraron una relación lineal dosis-respuesta entre el aumento de actividad física y la pérdida de grasa abdominal, descenso de la presión sanguínea y de los factores de riesgo cardiovasculares relacionados con el perfil lipídico, siendo significativo el incremento de la subfracción HDL<sub>3</sub>-colesterol. Calvo y col. (1996) demuestran la eficacia de la práctica regular de ejercicio físico aeróbico como pauta de intervención en pacientes hipertensos con hipercolesterolemia, al reducir la presión arterial sistólica y diastólica, no modificar la frecuencia cardíaca y mejorar el perfil lipídico reduciendo el riesgo cardiovascular de estos pacientes.

También se ha demostrado los beneficios de la actividad física en la prevención secundaria de enfermedad cardiovascular. Miller y col. (1997) observaron que los participantes en rehabilitación cardíaca después de un infarto de miocardio disminuyen su riesgo de muerte de un 20% a un 25% comparado con los controles. Los estudios controlados, en su conjunto, indican una reducción del 19% en la mortalidad a lo largo de más de cinco años si se compara el grupo que hacía ejercicio con el sedentario. La intensidad y tipo de ejercicio a realizar debe tener en cuenta la edad, el nivel de entrenamiento y la capacidad cardiorrespiratoria de los sujetos (Oberman, 1989).

#### 1.2.4.2.4. Obesidad

Se ha de diferenciar entre obesidad de predominio abdominal o androide y obesidad de predominio gluteofemoral o ginoide, la primera con mayor prevalencia de alteraciones lipoprotéicas, hiperinsulinemia, insulinoresistencia, diabetes mellitus tipo II, hiperfibrinogenemia y gota (Despres y col., 1990; Bjorntorp, 1991; Bjorntorp, 1992; Kissebah y col., 1994). Diversos estudios han demostrado que la distribución central de grasa se asocia en ambos sexos a un mayor riesgo cardiovascular (Larsson y col., 1984; Gillum, 1987; Oberman, 1989) que, en ocasiones, es independiente de otros factores de riesgo acompañantes (Hubert y col., 1983; Lapidus y col., 1984; Ducimetiere y col., 1986; Donahue y col., 1987; Hartz y col., 1990; Thompson y col., 1991; Clark y col., 1994).

El riesgo cardiovascular y la prevalencia de alteraciones metabólicas se asocia preferentemente a la distribución abdominal de grasa, más específicamente a su depósito visceral (Frayn & Coppack, 1992; Després & Lamarche, 1993; Frayn, 1993). La obesidad abdominal se asocia a niveles elevados de LDL-colesterol, triglicéridos y apo B, y descendidos de HDL-colesterol, fundamentalmente HDL<sub>2</sub>, y apo AI (Terry y col., 1989). Los factores que intervienen en el desarrollo de las alteraciones lipoproteicas observadas en

sujetos con depósito central de grasa son probablemente múltiples, si bien, el incremento en la llegada de ácidos grasos libres al hígado podría ser el factor inicial en su desarrollo. La grasa depositada en la cavidad abdominal (obesidad visceral o intraperitoneal) es más activa metabólicamente que la grasa localizada a nivel subcutáneo (obesidad subcutánea abdominal) (Arner, 1995) y, por lo tanto se favorece la mayor movilización de ácidos grasos hacia el hígado a través de la circulación portal (Bjorntorp, 1991), con los consecuentes efectos adversos sobre el aclaramiento y degradación de la insulina. Esto conduce a un estado de hiperinsulinemia e insulinoresistencia, factores relacionados con el incremento en la síntesis hepática de triglicéridos y en la liberación de VLDL (Howard y col., 1987; Despres y col., 1990). A este efecto adverso se suman los altos niveles circulantes de quilomicrones como consecuencia de la actividad disminuida de la insulina sobre la LPL del tejido adiposo (Eckel, 1989; Jeppesen y col., 1995). Todo esto se traduce en un estado de hipertrigliceridemia. La presencia de un gran número de partículas ricas en triglicéridos (quilomicrones y VLDL) resulta en un incremento de lípidos neutros con transferencia de triglicéridos de los quilomicrones y VLDL a las HDL y LDL, y transferencia recíproca de colesterol de las HDL y LDL a los quilomicrones y VLDL (Deckelbaum y col., 1984; Hopkins & Barter, 1986). La acción de la lipasa hepática sobre estas HDL y LDL da lugar a la formación de HDL y LDL de pequeño tamaño y de mayor densidad (Watson y col., 1994). Una tasa catabólica fraccional más alta de las HDL pequeñas (Brinton y col., 1994) resultaría en concentraciones más bajas de HDL, un perfil lipídico fuertemente ligado al mayor riesgo cardiovascular. Además existe una relación positiva entre el predominio de LDL de pequeño tamaño y aumento del riesgo de infarto de miocardio (Austin y col., 1988; Griffin y col., 1994). Por lo tanto, las bajas concentraciones de HDL y el predominio de LDL de pequeño tamaño son las consecuencias aterogénicas más importantes de la obesidad abdominal (Reaven y col., 1993; Selby y col., 1993).

El descenso del peso, aun sin llegar al valor ideal, tiene claros efectos beneficiosos sobre el riesgo cardiovascular y otros factores de riesgo asociados (Barret-Connor, 1985). En general, el descenso del peso corporal y del cociente cintura/cadera se acompaña de reducciones en los niveles plasmáticos de colesterol plasmático, LDL-colesterol y triglicéridos, así como con el aumento de HDL-colesterol (Fujioka y col., 1991; Wing y col., 1992; Wing y col., 1992b; Leenen y col., 1993). En conclusión, parece demostrado que el descenso del peso es beneficioso para la salud, aunque su mantenimiento a largo plazo presenta muchas dificultades.

#### 1.2.4.2.5. Trombogénesis

La trombosis, como complicación de la aterosclerosis, es un importante factor de riesgo cardiovascular. El suceso que determina si una placa ateromatosa conduce a infarto de miocardio o infarto cerebral es la formación de un coagulo sanguíneo sobre su superficie. La ruptura de la placa es un hecho que aumenta la probabilidad de trombosis (Davies y col., 1985). A su vez, el tipo de placa, más que su tamaño, es el que determina su posible ruptura. En el caso de aterosclerosis coronaria, las placas estables pueden estrechar la luz arterial y causar una angina de pecho estable, pero son relativamente inofensivas. Por el contrario, las placas vulnerables pueden romperse y provocar trombosis con la consiguiente amenaza para la vida, siendo responsables del desarrollo de síndromes coronarios agudos, angina inestable, infarto de miocardio y muerte súbita (Fuster, 1994). La acumulación gradual de lípidos y la consiguiente inflamación pueden desestabilizar una placa, aumentando el riesgo de ruptura repentina y trombosis. Factores externos tales como el stress mecánico y hemodinámico son importantes desencadenantes de la destrucción de placas vulnerables. Sin embargo, es la consiguiente respuesta trombótica la que hace peligrosa la ruptura de la placa. Esta respuesta es dinámica y se producen simultáneamente procesos de trombosis y trombolisis, causando frecuentemente obstrucción intermitente del flujo sanguíneo que conduce a un síndrome coronario inestable. El desafío actual es estabilizar las placas vulnerables para prevenir la trombosis y formación de nuevas placas sensibles a la ruptura (Schroeder y col., 1995).

La acumulación de lípidos y la inflamación crónica es ya manifiesta en las lesiones tempranas, estrías grasas, que contienen macrófagos cargados de lípidos, linfocitos T y unos pocos mastocitos, pero los neutrófilos no suelen estar presentes (Hansson, 1993). Esta lesión evoluciona gradualmente hasta formarse un núcleo blando dentro de la placa, que contiene cristales de colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos, productos de degradación celular y restos de colágeno. Este “engrudo” ateromatoso está separado de la luz vascular por una capa fibrosa de espesor variable que contiene colágeno, células musculares lisas y células inflamatorias, principalmente macrófagos. La placa ateromatosa “blanda” rica en lípidos es peligrosa porque la capa fibrosa puede romperse con lo que el “engrudo” altamente trombogénico se expande repentinamente al torrente sanguíneo (Fernandez-Ortiz y col., 1994). Las placas escleróticas duras con un alto contenido en células musculares lisas y colágeno y una cantidad limitada de lípidos son bastante resistentes al stress, mientras que las placas ateromatosas blandas con un núcleo muy expandido de lípidos extracelulares y una capa fibrosa delgada son extremadamente inestables y vulnerables (MacIsaac y col., 1993).

La destrucción de la placa en si no es peligrosa. El riesgo reside en la consiguiente trombosis. Hay 3 factores que determinan la respuesta trombótica a la destrucción de la placa: 1) el carácter y la cantidad de materiales trombogénicos (sustratos trombogénicos); 2) el grado de estenosis y las irregularidades en la superficie (turbulencias locales de flujo); y 3) el equilibrio trombótico-trombolítico en el momento de la ruptura de la placa (tendencia del sistema trombótico). En cuanto a los componentes responsables de la alta trombogenicidad de la placa, se señala al factor tisular como el candidato más verosímil (Wilcox y col., 1989; Wilcox, 1994). El segundo factor también influye en la respuesta trombótica, ya que la mayoría de las plaquetas se activan y depositan en los lugares donde hay mayor grado de estenosis e irregularidades (Folts, 1991). Por último hay que señalar la importancia del equilibrio trombótico-trombolítico ya que se sabe que factores trombogénicos tales como la hiperagregabilidad plaquetar, la hipercoagulabilidad y una débil acción fibrinolítica se asocian con aumento del riesgo de eventos coronarios mediados por trombos (Fuster y col., 1990; Thérout y col., 1990; Thérout, 1991).

Hay diferentes estudios que relacionan las concentraciones plasmáticas de ciertos factores trombogénicos tales como, el fibrinógeno (Meade y col., 1980), el factor VIIa, la actividad coagulante del factor VII (Kario y col., 1994), el inhibidor del activador del plasminógeno (Wieczorek y col., 1994) y el factor de von Willebrand (Jansson y col., 1991), con manifestaciones clínicas de enfermedad arterial coronaria. En un estudio más reciente, Boda (1997) encontró que los niveles elevados de fibrinógeno pueden considerarse como un predictor fuerte e independiente de riesgo cardiovascular. Pan y col., (1997) estudiaron la conexión entre el factor VII de la coagulación y la incidencia de aterosclerosis en un subgrupo de 147 individuos chinos del total de participantes en el *Cardiovascular Disease Risk Factor Two-Township Study*. Estos autores encontraron una asociación positiva entre la actividad coagulante del factor VII y la presencia de enfermedad aterosclerótica en las arterias carótidas. Pero no pudieron determinar si esta asociación es independiente de otros factores de riesgo cardiovasculares ya que, aunque los niveles de fibrinógeno se correlacionan con pocos factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en hombres, si que aparecen correlaciones positivas con la edad, presión sanguínea sistólica, presión sanguínea diastólica, colesterol plasmático, LDL-colesterol y triglicéridos en el caso de mujeres. En cuanto a la actividad coagulante del factor VII, la asociación con factores de riesgo tales como edad, IMC, colesterol plasmático total, triglicéridos y nivel de insulina en ayuno es clara para ambos sexos (Ishikawa y col., 1997).

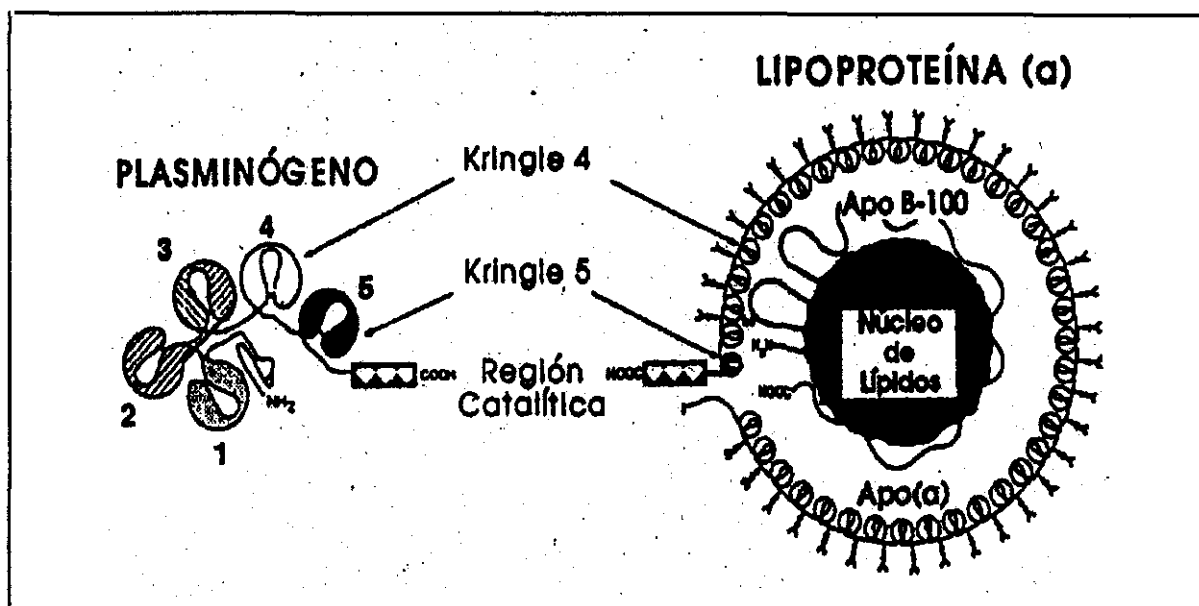
### 1.2.4.3. *Lp(a): trombogénesis y aterogénesis*

La Lp(a), una partícula parecida a la LDL, es considerada actualmente como un factor mayor e independiente de riesgo cardiovascular (Berg, 1992; Dahlén, 1994) y de aterosclerosis preclínica (Schreiner y col., 1993). El mecanismo de acción de esta lipoproteína no está todavía claramente establecido; sin embargo, se admite que está relacionado con su estructura particular (Figura 14). La Lp(a) posee un componente semejante a la LDL, la apo B100, unida a una glicoproteína estructuralmente parecida al plasminógeno, la apo(a), capaz de favorecer la aterogénesis y la trombogénesis (Anglés-Cano y col., 1994). Es precisamente la existencia de estos dobles componentes estructurales de tipo LDL y plasminógeno lo que hace la Lp(a) un eslabón natural entre estos procesos. El depósito de colesterol y la acumulación de fibrina estarían así ligados por un mecanismo común que implica a la Lp(a), cuyo papel fisiológico se desconoce.

La apo(a) por una parte neutraliza la capacidad de unión de la apo B100 al receptor de la LDL, y por otra confiere a la Lp(a) propiedades nuevas basadas en su comunidad estructural con el plasminógeno.

La apo(a) y el plasminógeno presentan importantes homologías estructurales (Guevera y col., 1992). El plasminógeno es una proteína de 790 aminoácidos que presenta varias regiones o dominios a lo largo de su estructura, que empezando por el extremo N-terminal son: una región de 78 aminoácidos que será escindida por la plasmina para iniciar la activación del plasminógeno, 5 módulos llamados *kringles* y una región globular que contiene la tríada catalítica Hys, Asp, Ser, en donde se localiza la actividad proteásica (Henkin y col., 1991). Los *kringles* son estructuras rígidas en triple bucle, ricas en Cys y estabilizados por puentes disulfuros internos (Figura 14). Dos de esos módulos, los *kringles* 1 y en menor medida el 4, presentan capacidad de unirse a los residuos de lisina (Miles y col., 1990; Loscalzo, 1990), que son los receptores para el plasminógeno (y la plasmina) que se localizan en diversos tipos celulares, la fibrina, el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y la  $\alpha_3$ -antiplasmina. Por su parte el *kringle* 5 tiene la capacidad de enlazar trombospodina celular (DePoli y col., 1989). La transformación del plasminógeno en plasmina se debe a la activación de un puente peptídico situado dentro de la región catalítica; esta activación permite la organización del sitio activo y el inicio de la actividad de la plasmina.





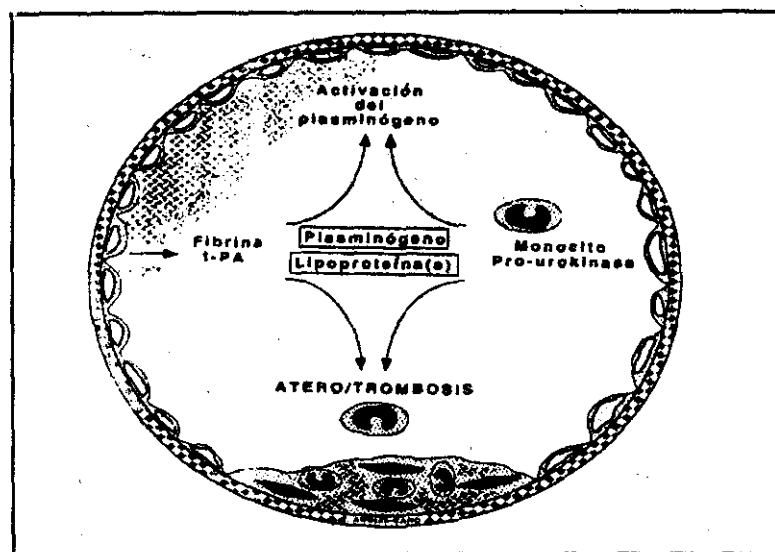
**Figura 14.** Apo(a) y el plasminógeno: homologías estructurales. El núcleo lipídico y la apo B100 son comunes a la Lp(a) y a las LDL; la apo(a) es característica de la Lp(a), ella es estructuralmente similar al plasminógeno y comparte múltiples copias del *kringle* 4 del plasminógeno y una copia del *kringle* 5 y de la región catalítica. Tomada de Nasiff y col. (1997).

La apo(a) está constituida por un número variable de copias del *kringle* 4 del plasminógeno y de una copia del *kringle* 5 y de la región catalítica (Mc Lean y col., 1987). Las copias del *kringle* 4 son similares pero no idénticas, lo que permite clasificarlo en 10 tipos diferentes (Guevara y col., 1992). El *kringle* 4 de tipo 2 es el más alejado estructuralmente del *kringle* 4 original y no posee la función de unión con los residuos lisina; el número variable de copias de este *kringle* determina la existencia de múltiples isoformas de apo(a), por lo que sus medidas varían de 300 a 800 kD (Lackner y col., 1993). Los otros 9 tipos de *kringles* están presentes en copia única. El *kringle* 4 de tipo 9 posee un residuo cisteína suplementario que permite la unión de la apo(a) con la apo B100 de la LDL. Un sitio de unión con los residuos lisina idéntico a aquel del *kringle* 4 del plasminógeno está presente en el *kringle* 4 de tipo 10, y sitios de unión a los residuos lisina ligeramente modificados se encuentran en los *kringles* 4 de tipo 3 al 8; ellos le confieren a la apo(a) capacidades de unión con la fibrina (Harpel y col., 1989; Edelberg y col., 1990; Loscalzo y col., 1990) y con las células endoteliales y monocitarias (Hajjar y col., 1989; Miles y col., 1989; González-Gronow y col., 1989) similares a aquellas del plasminógeno. Sin embargo, la mutación de 2 aminoácidos de la apo(a) que constituyen el sitio de activación reconocido por los activadores (t-PA y uroquinasa) sobre el plasminógeno impide su transformación en enzima proteolítica. Así, esta minúscula diferencia entre 2 serina-proteasas, con una gran homología estructural, se traduce por un efecto diametralmente opuesto en relación con la generación de plasmina.

#### 1.2.4.3.1. Efectos de la Lp(a) en la fibrinólisis

##### 1.2.4.3.1.1. *Inhibición de la formación de plasmina por la Lp(a)*

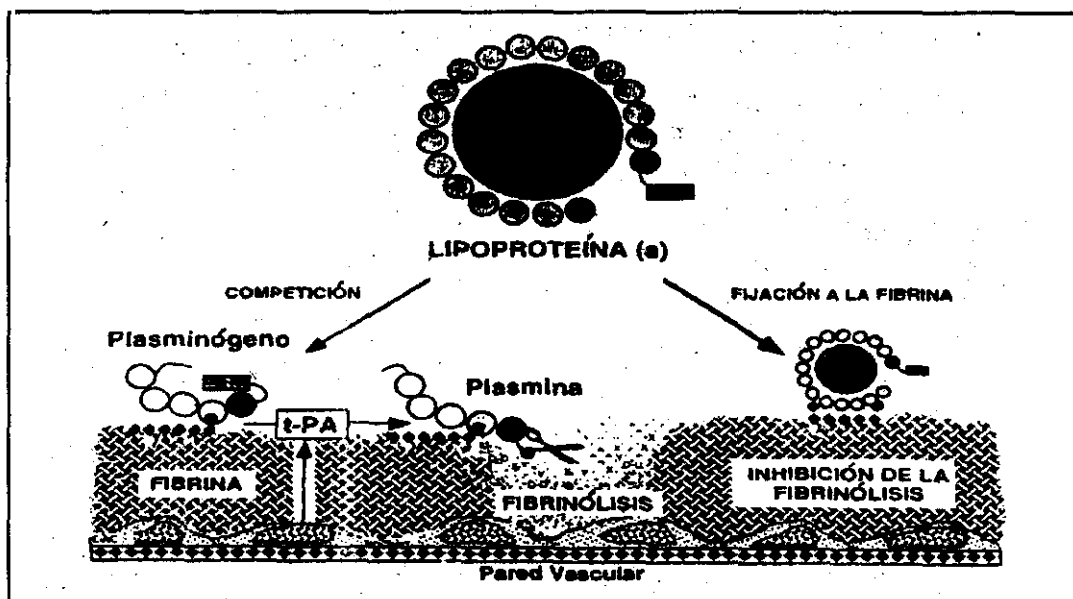
La activación del plasminógeno en la superficie de la fibrina o de las membranas celulares es una reacción de alta especificidad. Ella constituye el fundamento fisiológico de la fibrinólisis y de las múltiples funciones ligadas con la proteólisis pericelular (Figura 15) (Anglés-Cano, 1994b).



**Figura 15.** La activación del plasminógeno, un mecanismo mayor de defensa contra la trombosis. Su inhibición por la Lp(a) constituye el fundamento del efecto aterotrombótico de esta partícula. Tomada de Nasiff y col. (1997).

La homología estructural que existe entre la apo(a) y el plasminógeno condiciona un efecto competitivo que conduce, por una parte, a la unión preferencial de la Lp(a) con los residuos lisina de la fibrina y por la otra, a la inhibición de la unión del plasminógeno y de la cantidad de plasmina generada en la superficie de la fibrina (Rouy y col., 1992) de las células endoteliales (Hajjar y col., 1989) de los monocitos (Miles y col., 1989) y de las plaquetas (Ezaratty y col., 1993). La mayor parte de los efectos de la Lp(a): persistencia de depósitos de fibrina, acumulación de colesterol y estimulación de la proliferación de las células musculares lisas dentro de la íntima, están ligados a este mecanismo de acción (Figura 16).

La hipofibrinólisis y la acumulación de colesterol son las consecuencias directas de la presencia de Lp(a) en la superficie de la fibrina: la apo(a) inhibe la generación de plasmina y la fracción LDL favorece el aporte de colesterol.



**Figura 16.** Mecanismo de acción de la Lp(a). La inhibición competitiva de la unión del plasminógeno por la Lp(a), tiene como consecuencia la acumulación de fibrina y colesterol en la pared vascular. Tomada de Nasiff y col. (1997).

La migración y la proliferación de las células musculares lisas dentro de la íntima son mecanismos importantes en la formación de la placa de ateroma. Estos fenómenos son inhibidos por el TGF- $\beta$  (*transforming growth factor- $\beta$* ), un factor de crecimiento secretado en forma inactiva y activado por la plasmina. Un defecto de la activación del TGF- $\beta$  por ausencia de plasmina puede inducir la migración y la proliferación de células musculares lisas (Grainger y col., 1993). Se ha demostrado en ratas transgénicas que sintetizan la apo(a) humana una disminución de la activación de TGF- $\beta$  asociada con una disminución de la generación de plasmina (Lawn y col., 1991), lo que no fue, sin embargo, corroborado en un estudio reciente (Mancini y col., 1995). Serán necesarios estudios *in vivo*, tanto en el hombre como en otros animales, para verificar estos resultados y determinar la importancia fisiopatológica de este mecanismo.

#### 1.2.4.3.1.2. Modificación de la síntesis celular

La Lp(a) es capaz de estimular la producción del inhibidor del activador del plasminógeno o de disminuir la de t-PA por las células endoteliales en cultivo (Etingin y col., 1991; Levin y col., 1994). La modificación de la síntesis de estos factores puede traducirse por una hipofibrinólisis. La disminución de t-PA tendrá un efecto directo sobre la activación del plasminógeno, mientras que una concentración elevada de PAI-1 puede inhibir sus

actividades. El efecto hipofibrinolítico de la apo(a) podría encontrarse también acentuado por ese mecanismo.

#### 1.2.4.3.2. Efectos aterogénicos de la Lp(a)

La Lp(a) puede, como la LDL, atravesar la barrera endotelial e infiltrar la íntima, su entrada depende de su concentración plasmática. Así, la Lp(a) intacta es encontrada dentro de las lesiones ateroscleróticas de arterias humanas de grueso y mediano calibre, y se localiza tanto con la fibrina en la matriz extracelular como dentro de las células espumosas (Bini y col., 1989; Beisegel y col., 1990). En las lesiones ateroscleróticas precoces la cantidad de apo(a) Lp(a) está correlacionada con la concentración plasmática; en las lesiones avanzadas esta cantidad es más importante y de 2 a 3 veces superior a aquella que poseen las LDL cuando se comparan con sus concentraciones plasmáticas respectivas.

La acumulación de la Lp(a) en las lesiones ateroscleróticas se debe a las interacciones privilegiadas de la apo(a) con la fibrina, las células endoteliales y las células del sistema monocitario/macrofágico. Además estudios recientes indican que la Lp(a) y la apo(a) poseen una alta afinidad por la fibronectina y que la Lp(a) podría formar complejos con ciertos poliglicanos o glicosaminoglicanos de la matriz extracelular (Bihari-Varga y col., 1988; Van der Hoek y col., 1994), lo que favorecería la modificación de la Lp(a) y su consecuente captación por los monocitos y acumulación dentro de la placa de ateroma en desarrollo. El mecanismo de esta interacción es desconocido y no parece depender del sitio de unión a los residuos de lisina de los *kringles*.

Por otra parte, los fosfolípidos del núcleo lipídico de la Lp(a) son, como aquellos de las LDL, sensibles a las reacciones de oxidación. La Lp(a) modificada será captada por el receptor *scavenger* de los macrófagos y contribuirá así a la formación de las células espumosas (Naruszewicz y col., 1992; Haberland y col., 1992). Los antioxidantes tales como el probucol, los  $\beta$ -carotenos y las vitaminas C y E podrían prevenir ese fenómeno. Los macrófagos pueden también fagocitar de manera específica agregados de LDL y de Lp(a), o complejos insolubles entre esas lipoproteínas y ciertos compuestos de la matriz extracelular; este mecanismo constituye una segunda vía de formación de las células espumosas.

En la Figura 17 se muestran el conjunto de mecanismos de acción de la Lp(a) sobre la pared vascular.

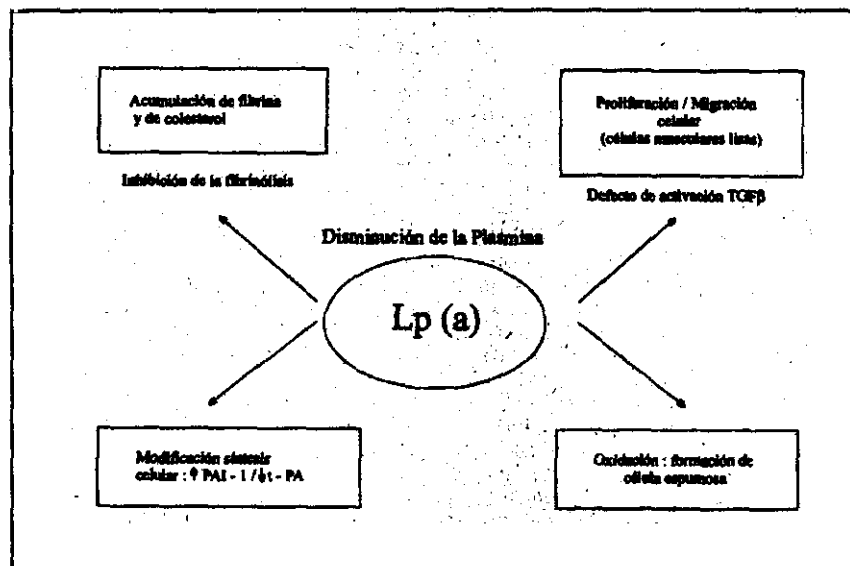


Figura 17. Esquema general que representa los diversos modos de acción asociados con la Lp(a) en la pared vascular. Tomada de Nasiff y col. (1997).

#### 1.2.4.3.3. *Polimorfismo genético y heterogeneidad de la Lp(a)*

El hecho de que no existe patología asociada con niveles bajos de Lp(a) y la ausencia de factores selectivos en la evolución que limitarán el desarrollo de un gran polimorfismo de la apo(a), sugiere que la Lp(a) no es un factor biológico vital.

Estudios retrospectivos (Dahlén, 1994) han puesto en evidencia una asociación entre niveles elevados de Lp(a) y riesgo cardiovascular en sujetos menores de 60 años. Asimismo, estudios prospectivos recientes confirman que existe una relación directa entre niveles de Lp(a) y cardiopatía isquémica (Crener y col., 1994; Schaefer y col., 1994; Bostom y col., 1994; Orem y col., 1995; Hiraga y col., 1995) y con su progresión angiográfica (Terres y col., 1995). A los mismos resultados se ha llegado para la aterosclerosis coronaria, la claudicación intermitente (Cantin y col., 1995) y el infarto cerebral (Shintani y col., 1993). Catalano y col., (1998) en un estudio caso-control concluyeron que altas concentraciones plasmáticas de Lp(a), incluso dentro del rango normal, incrementan la incidencia de enfermedad cardiovascular en personas con hipertensión arterial esencial. Se admite actualmente que el efecto aterotrombógeno de la Lp(a) está ligado con su concentración plasmática elevada, pero la cuestión es saber si el riesgo atribuido a la Lp(a) está ligado o no con las isoformas de apo(a) de baja masa molecular.

Recientes trabajos han encontrado diferencias en la distribución de los diversos alelos de apo(a) entre los pacientes con aterosclerosis y una población control (Molgaar y col., 1992; Seed y col., 1990; Sandholzer y col., 1992). Las isoformas de baja masa molecular

B, S1 y S2 se encuentran más frecuentemente en los sujetos portadores de insuficiencia coronaria (Kamboh y col., 1995; Parlavechia y col., 1994), de enfermedad isquémica cerebral (Senti y col., 1994) y de claudicación intermitente (Cantin y col., 1995), que muestran igualmente niveles elevados de Lp(a), lo que sugiere que los alelos cortos de apo(a) contribuyen a la aterogénesis aumentando la concentración plasmática de Lp(a).

La existencia de una diversidad funcional de la Lp(a) ha sido evocada por los resultados obtenidos con el plasma de sujetos con una tasa elevada de ésta, pero sin efecto sobre la fibrinólisis (Rouy y col., 1991). En estos casos particulares la unión con el plasminógeno no se modificó y la Lp(a) no pudo ser detectada en la superficie de la fibrina, lo que indica que el número variable de *kringles* que constituye la molécula de apo(a) puede modificar su comportamiento funcional. Así, las isoformas de baja masa molecular poseen un efecto más pronunciado sobre la fibrinólisis, lo mismo que epidemiológicamente, ellas están más directamente ligadas al riesgo cardiovascular. En el caso de sujetos heterocigóticos, que representan más del 94% de la población, es la concentración de la isoforma con más alta afinidad por la fibrina y no la concentración absoluta de Lp(a) la que desempeña un papel primordial como factor de riesgo aterógeno (Hervio y col., 1995). Mutaciones puntuales podrían igualmente conducir a modificaciones funcionales (Scanu y col., 1994); sin embargo, su frecuencia en la población general es muy baja (menos del 2%), y la mutación al nivel de un solo *kringle* no sería suficiente para modificar significativamente un fenómeno de unión con la fibrina o las células, que depende probablemente de la interacción de muchos *kringles* en el seno de la molécula. Por último hay que considerar el grado de glicosilación de la apo(a), ya que la menos glicosilada inhibe la fibrinólisis más eficazmente que la más glicosilada (Leerink y col., 1992).

Globalmente estos resultados indican que en adelante, además de un efecto cuantitativo, un efecto cualitativo ligado a las isoformas de la apo(a) debe ser considerado dentro del rol aterogénico y trombogénico de la Lp(a). Esto podría explicar los resultados contradictorios comunicados en la literatura (Jouhiainen y col., 1991; Ridker y col., 1993; Scanu y col., 1994; Nascetti y col., 1996) sobre la ausencia de correlación entre la tasa de Lp(a) y la incidencia de infarto de miocardio y otros sucesos cardiovasculares.

### **1.3. LA DIETA EN LAS PERSONAS DE EDAD AVANZADA**

#### **1.3.1. Situación nutricional en las personas mayores**

La salud de una persona de edad avanzada puede mejorarse y mantenerse con una alimentación adecuada y una actividad física moderada. En personas mayores es rara la desnutrición avanzada, pero sí son usuales las deficiencias subclínicas (WHO, 1983; Johnson y Kligman, 1992).

Otro problema es la sobrealimentación existente en personas mayores de algunos países que se traduce en una ingesta elevada de grasas y un déficit en proteínas, minerales y vitaminas, siendo estos desequilibrios nutricionales los causantes de la aparición de determinadas enfermedades (Chandra y col., 1991; Johnson y Kligman, 1992).

La situación nutricional en las personas de edad avanzada viene condicionada por una serie de factores económicos, sociales y físicos que hacen disminuir su ingesta de alimentos. Muchas personas mayores sufren la escasez de medios económicos que les impiden una alimentación correcta (Chandra y col., 1991). Por otra parte, este colectivo está en numerosas ocasiones socialmente aislado y sufre el deterioro de sus facultades debido a alteraciones del sistema nervioso como la demencia senil, la depresión o la pérdida de su capacidad cognoscitiva (Hanson y col., 1987). Físicamente las personas mayores sufren la disminución de las sensibilidades gustativas y olfativas que desembocan en un menor interés por la comida (Mobarhan y Trumbore, 1991; Chandra y col., 1991), una disminución de la capacidad de masticación por deterioro de la dentadura (Chandra y col., 1991; Durá y col., 1990), una menor actividad física que se traduce en un déficit en la ingestión de energía y nutrientes (Durá y col., 1990) y cambios metabólicos con una menor utilización de los alimentos ingeridos (Rojas, 1985; Holund y col., 1997). Otro factor que da lugar a la aparición de deficiencias en ciertos nutrientes en personas de edad avanzada es el elevado consumo de medicamentos (Durá y col., 1990).

Las enfermedades más frecuentes asociadas a la inadecuada alimentación de las personas mayores son las enfermedades cardiovasculares, debidas a hipertensión más que a hipercolesterolemia (Nikilä y Heikkinen, 1990), las cataratas, por déficit de determinadas vitaminas (Carter, 1994), el deterioro de la función inmunológica y en consecuencia del aumento de infecciones (Lesourd, 1997), y el deterioro de las funciones mentales que se puede atenuar con una alimentación correcta (Bermejo, 1992).

### **1.3.2. Dieta recomendada en las personas de edad avanzada**

Las personas mayores deben consumir una dieta variada, baja en grasas y colesterol, rica en productos lácteos, cereales, frutas y verduras, moderada en sodio, azúcar y bebidas alcohólicas (Johnson y Kligman, 1992). En definitiva una dieta equilibrada, con una alta

densidad de nutrientes y que les permita mantener el peso adecuado (*US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990). Además es importante que sea agradable a la vista, de fácil masticación y digestión y respete las preferencias alimentarias de las personas mayores (Vera y col., 1987).

Es muy importante vigilar la ingesta de líquido (como mínimo 2 litros de agua al día) ya que con la edad se pierde la sensación de sed y por ello se puede padecer fácilmente deshidratación (Requejo y Ortega, 1995).

### **1.3.2.1. Distribución de las comidas**

La distribución de las comidas es un importante punto a tener en cuenta. Generalmente la realización de tres comidas al día, distribuidas como desayuno, comida y cena es suficiente. Sin embargo en aquellos ancianos que tengan disminuido su apetito podría ser recomendable la merienda. Comer entre horas es poco saludable, ya que generalmente aumenta la ingesta calórica (Requejo y Ortega, 1995). Sólo en aquellos ancianos con ciertas deficiencias nutricionales este hábito puede suponer la ingesta adecuada de productos lácteos y frutas (Schienker, 1984; Johnson y Kligman, 1992).

El desayuno debe aportar un 20-25% de las calorías totales de la dieta, ser variado y se recomienda el consumo de fruta para mejorar el tránsito intestinal (Ojofeimi, 1988; Thoulon-Page, 1991). La supresión de esta comida generalmente induce a comer entre horas, originando una mayor ingesta calórica a lo largo del día y a un menor rendimiento físico e intelectual (Breslow y Breslow, 1993).

La comida del mediodía debe aportar un 30-40% del total de calorías diarias (Thoulon-Page, 1991). Muchos ancianos tienden a suprimirla y reducir el número de comidas a dos, un desayuno tardío y una cena copiosa. Esto da lugar a una disminución en la ingesta energética y al consumo entre horas de alimentos que generalmente tienen una baja densidad de nutrientes (Schienker, 1984).

La merienda, si se realiza, debe aportar un 15-20% de la ingesta calórica total (Thoulon-Page, 1991) y en ella se hace muy recomendable el consumo de productos lácteos y frutas que no se hayan ingerido en las otras comidas (Schienker, 1984).

No es recomendable que las cenas sean copiosas, ya que eso ocasionaría difíciles digestiones. Se recomienda que constituya un 25-30% de las calorías diarias (Thoulon-Page, 1991).



### **1.3.2.2. Regímenes especiales**

Debido a las diferentes afecciones que padecen las personas mayores, podemos encontrar que algunos necesiten regímenes especiales como dieta hiposódica, hipocalórica, blanda o de protección gástrica, de protección hepatobiliar o la dieta para diabéticos (Vera y col., 1987; Elliot, 1991; Johnson y Kligman, 1992).

La dieta hiposódica se recomienda en aquellas personas de edad avanzada que padezcan hipertensión y se puede compaginar con dietas ricas en calcio y potasio de efecto hipotensor (*National Research Council* (NRC), 1989; Kesteloot, 1991; Elliot, 1991; Tobian, 1997). La dieta hipocalórica es adecuada en ancianos con lípidos plasmáticos elevados y debe ir acompañada de la no ingesta de alcohol (Fredrikson y Levy, 1980; Van Dokkum y col., 1991). En caso de alteraciones gástricas y/o hepáticas se recomiendan dietas blandas y/o de protección hepatobiliar (Vera y col., 1987). Las dietas para ancianos con diabetes, generalmente no insulino dependientes, están basadas en la restricción de hidratos de carbono refinados, y a menudo deben ir acompañadas de una disminución en la ingesta de energía para reducir la obesidad (Karlström y col., 1989; Johnson y Kligman, 1992).

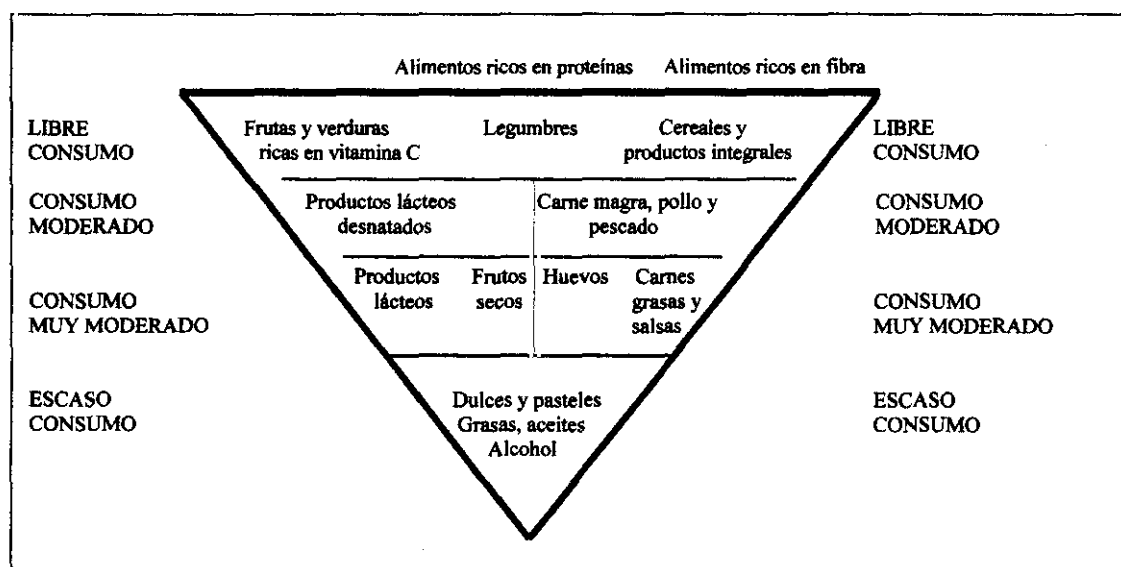
### **1.3.3. Consumos recomendados de alimentos**

Las necesidades nutritivas de las personas de edad avanzada son parecidas a las del adulto, pero están disminuidas en energía debido a la reducción de células metabólicamente activas y a una menor actividad física. El aporte energético debemos proporcionarlo principalmente mediante la ingesta de alimentos ricos en hidratos de carbono: pan, patatas, arroz, pastas, etc., y de grasas de origen vegetal. Hay que limitar el consumo de grasas animales que por su alto contenido en colesterol y ácidos grasos saturados pueden promover la enfermedad cardiovascular (Rojas, 1985; Black y Kappor, 1990; De Leeuw y col., 1992; Lówik y col., 1992).

Las proteínas, necesarias para la reparación de los tejidos, deben ocupar un papel importante dentro de su dieta. Por tanto deben incluirse con frecuencia la leche y derivados, el pescado, los huevos si no hay contraindicaciones médicas, las legumbres, el pollo, y otras carnes pobres en grasa. Las frutas, hortalizas y verduras deben ingerirse en cantidad suficiente para que les proporcionen los minerales, vitaminas y fibra indispensables (Rojas, 1985; Chandra y col., 1991; Johnson y Kligman, 1992; Levine, 1996). En cualquier caso, la dieta debe ser suficiente, pero evitando el exceso, de fácil masticación y digestión.

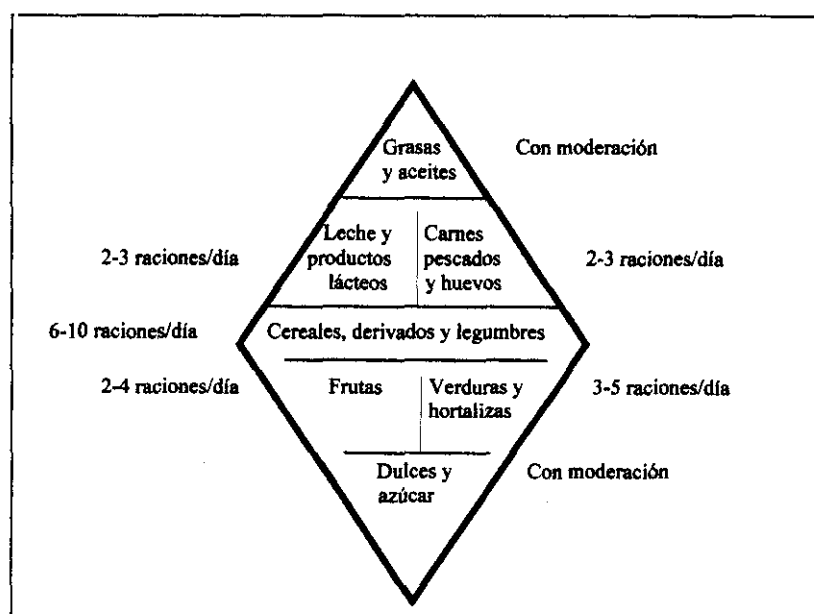
Como se indica a continuación (Figura 18), el NRC (1989) agrupó los alimentos en función de su consumo recomendado en forma de una pirámide invertida.

En 1996 las doctoras Ana M<sup>a</sup> Requejo y Rosa Ortega del Departamento de Nutrición establecieron que una alimentación variada debe incluir diariamente alimentos de todos los grupos y dentro de unas proporciones dadas. Tales recomendaciones se resumieron en forma de una figura a la que denominaron "Rombo de la Nutrición" (Figura 19).



**Figura 18.** Recomendaciones de consumo de los alimentos (NRC, 1989).

Lógicamente estas recomendaciones son de ámbito general y deben en ocasiones adaptarse a las peculiaridades de un colectivo o de un individuo.



**Figura 19.** Recomendaciones de consumo de alimentos (Departamento de Nutrición, 1996).

Las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) recomiendan una serie de raciones diarias de los distintos alimentos que vienen recogidas en el Cuadro 10.

Alimentos	Raciones diarias
Vegetales	3 - 5
Frutas	2 - 4
Pan, cereales y pasta	6 - 11
Leche y derivados	2 - 3
Carnes rojas, pollo, pescado, legumbres, huevos y frutos secos	2 - 3

**Cuadro 10.** Raciones diarias recomendadas por las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990).

### 1.3.3.1. Grupo I: Cereales y derivados

Los cereales, por sus características nutritivas y su bajo costo comparado con otros alimentos, constituyen la alimentación básica en muchos pueblos del mundo. El trigo, el maíz, la avena, etc., forman parte de este grupo de alimentos de los cuales el trigo es el de mayor importancia en la alimentación de los españoles. Otro de los cereales más consumidos en nuestro país es el arroz, cuya función es básicamente energética pero que permite buenas combinaciones con hortalizas, carnes y pescados, completando así su valor nutritivo.

El NRC (1989) incluye a los cereales y productos integrales dentro del grupo de alimentos que pueden ser consumidos sin ningún tipo de restricción, las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) recomiendan la ingesta de 6 a 11 raciones al día y el Departamento de Nutrición (1996) recomienda junto con las legumbres de 6 a 10 raciones diarias, cifra que se reduce a 6-8 raciones en el caso de ingestas recomendadas para las personas de edad avanzada (Requejo y Ortega, 1995).

La principal función de los cereales es la energética debido a las calorías procedentes de los hidratos de carbono, su principal componente. También nos proporcionan proteínas pero de menor valor biológico que las proteínas de origen animal, ya que tienen un bajo contenido en lisina y algunos cereales como el maíz, en triptófano (Birdsall, 1985; Grande y Varela, 1991). No obstante, si se consumen simultáneamente cereales con legumbres y hortalizas o con alimentos de origen animal se obtienen ingestas proteicas muy completas.

Los cereales y sus derivados son ricos, además, en minerales como calcio, magnesio, fósforo, hierro y selenio, y contienen una cantidad importante de vitaminas del grupo B cuando el cereal está en su modalidad integral (Birdsall, 1985; Grande y Varela, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). El germen de trigo es la parte más rica en proteínas, vitaminas del complejo B, hierro, vitamina E y grasas.

La fibra es otro de los componentes importantes de los cereales (Johnson y Kligman, 1992), relacionándose su consumo con una disminución del estreñimiento atónico (Zhang y col., 1992; Marlett y col., 1994; Cherbut y col., 1994) muy común en individuos encamados, sedentarios y personas de edad avanzada, y del riesgo cardiovascular, disminuyendo los niveles sanguíneos de triglicéridos y de colesterol, principalmente la fracción LDL (Davidson y col., 1991; Leadbetter y col., 1991). Otro efecto es la disminución de la presión arterial (Anderson, 1983; Stamler y col., 1997). Además, la ingesta de fibra da lugar a una sensación de saciedad por lo que su consumo es aún más recomendable en personas que deban restringir su ingesta calórica (Levine y col., 1989).

Una cantidad moderada de pan debe ser incluida en la dieta porque aporta calorías en forma de hidratos de carbono que nuestro organismo necesita. Las harinas de trigo utilizadas normalmente en la elaboración del pan son demasiado refinadas y en consecuencia su valor nutritivo disminuye. Por ello se recomienda el consumo de pan integral, elaborado con harinas más ricas en minerales y vitaminas sobre todo del grupo B. Sin embargo hay que tener en cuenta que el pan blanco se digiere mejor que el integral porque su contenido en fibra es menor y en consecuencia es tolerado mejor. Según Andersson-Hassan y Hoint-Pradier (1990) y Lówik y col. (1990) las fuentes de hidratos de carbono en los ancianos deberían ser los cereales y el pan integral, y sin embargo deberían ingerir cantidades moderadas de productos de bollería y galletas, alimentos a menudo ricos también en grasas saturadas (NRC, 1989).

#### **1.3.3.2. Grupo II: Productos lácteos**

Los productos lácteos son alimentos muy completos y constituyen la mejor fuente de calcio (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). Su contenido en proteínas, de valor biológico comparable a las de la carne y huevo, es bueno. Son además una fuente importante de vitaminas, sobre todo A y del grupo B (Grande y Varela, 1991). Sin embargo, no pueden considerarse fuentes de vitamina C, ya que la pequeña cantidad que contienen se destruye en los procesos de higienización de los mismos.

Los productos lácteos son adecuados para todas las edades, recomendándose en las personas mayores aquellos con bajo contenido en grasa (Lówik y col., 1990). Entre sus propiedades están la de disminuir la hipertensión arterial (McCarron y col., 1991) y la de suministrar calcio de alta biodisponibilidad previniendo la osteoporosis (Chandra y col., 1991).

Sin embargo, el NRC (1989) considera a los productos lácteos "enteros" dentro del grupo de los alimentos cuyo consumo debe ser muy moderado y a los desnatados en el grupo de los de consumo moderado. Las recomendaciones de las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) y del Departamento de Nutrición (1996) indican un consumo de 2 a 3 raciones diarias. En el caso de las personas de edad avanzada se recomienda aumentar la ingesta a 3 o 4 raciones al día (Requejo y Ortega, 1995).

La utilización digestiva de la leche es muy buena y sus proteínas se asimilan prácticamente en su totalidad. Sin embargo, en las personas mayores puede existir intolerancia a la lactosa debido a la disminución de índole ontogénica de lactasa o  $\beta$ -galactosidasa. Por ello, la sustitución de la leche por otros derivados como el yogur, con menor contenido en lactosa y por tanto mejor digeribles para este colectivo, es recomendable (Martini y col., 1991; Varela y col., 1991). Además en estas leches fermentadas está aumentada la biodisponibilidad de algunos minerales, especialmente el calcio, y la cantidad de vitaminas como folatos, niacina, riboflavina, piridoxina y tiamina. Sin embargo, las vitaminas C y B<sub>12</sub> disminuyen durante el proceso de fermentación (Gurr, 1991).

Las leches fermentadas tienen además la propiedad de regular el peristaltismo intestinal (Rosenthal, 1991) y de estimular el sistema inmunitario (De Simone y col. 1988; Chandra y col., 1991; Solis-Pereyra y col., 1997).

### 1.3.3.3. Grupo III: Huevos

Aunque los huevos son una importante fuente de proteínas de alto valor biológico y de vitaminas (sobre todo A y del grupo B), su contenido relativamente alto en grasas en general y en colesterol en particular, hace que se recomiende un consumo muy moderado de los mismos (NRC, 1989; Grande y Varela, 1991). No obstante, su alto contenido en ácido oleico, linoleico y esteárico y los resultados derivados de algunos estudios (Dawber y col., 1982) sugieren que las restricciones a 2-3 huevos por semana podrían no estar justificadas. Sólo en aquellas situaciones metabólicas donde exista un defecto en la regulación de la síntesis endógena de colesterol parece recomendable tal restricción e incluso incrementarla. En las recomendaciones de la Sociedad

Española de la Nutrición Comunitaria (Llopis, 1995) se dice textualmente sobre el consumo de huevos: "...sin embargo, su buena relación calidad/precio, las grandes posibilidades culinarias (admite múltiples preparaciones, menos rápidos), su amplia aceptación, la alta calidad de la proteína y grasa (alto porcentaje de ácido oleico) y el alto contenido en hierro y vitaminas A, D, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y fólico, micronutrientes ingeridos deficitariamente por un porcentaje importante de la población, nos induce a pensar que podría recomendarse a la población con bajo riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular la sustitución de parte de la carne ingerida (sobre todo carnes semimagras y con alto contenido en grasa) y productos cárnicos por huevos, a pesar de que esta sustitución nos alejara del objetivo de no superar los 300 mg de colesterol/día". Las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) y el Departamento de Nutrición (1996) aconsejan que el consumo de huevos, carnes o pescados sean en total de 2-3 raciones diarias. La misma ingesta recomiendan Requejo y Ortega (1995) en las personas de edad avanzada, y Thoulon-Page (1991) recomienda en este colectivo un consumo de 3 a 5 huevos por semana, debido al importante aporte de nutrientes que proporciona este alimento.

#### **1.3.3.4. Grupo IV: Azúcares**

El azúcar constituye junto con las bebidas alcohólicas destiladas el único alimento de la naturaleza que prácticamente sólo nos proporciona kcal, por lo que no se debe abusar de ella. El azúcar es el combustible del músculo y la forma más fácil de proporcionar energía de rápida asimilación.

Tanto el NRC (1989) como las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) y el Departamento de Nutrición (1996) recomiendan un consumo moderado de azúcares tanto en la población general como en las personas de edad avanzada (Requejo y Ortega, 1995).

El consumo elevado de azúcar contribuye a la producción de caries dental (Van Dokkum y col., 1991; Nagao, 1992). Sin embargo no se comporta como diabetogénica ni desencadenante de obesidad a no ser que su consumo sea muy elevado (Grande, 1986). Su relación con la enfermedad coronaria no es clara, no obstante la ingesta de hidratos de carbono, y particularmente de sacarosa y fructosa tiene un efecto hipertrigliceridemiante a través de incrementar los niveles de VLDL-triglicéridos (Szostak y Cybulska, 1987; Tillotson y col., 1997).

### 1.3.3.5. Grupo V: Grasas y aceites

La función de las grasas en el organismo es la de proporcionar energía y ácidos grasos esenciales, además de ser la vía normal en la que se encuentran disueltas las vitaminas liposolubles (Dupont y col., 1991; Grande y Varela, 1991). El consumo de grasas, por esta razón, es necesario aunque sea en una pequeña cantidad.

Los alimentos aportan grasas de origen animal y vegetal. En España entre las grasas animales las de mayor consumo son la manteca de cerdo, el tocino y la mantequilla. Entre los aceites, el de oliva ha sido hasta no hace muchos años el más utilizado, si bien actualmente los aceites de semillas: girasol, soja, etc., han ido desplazándolo del consumo cotidiano, más bien por razones económicas que por gusto personal. En la actualidad a nivel industrial se ha incrementado enormemente el consumo de aceites de palma y de la fracción líquida de dicho aceite, la oleína de palma, la cual está enriquecida en ácido oleico.

El hombre tiene una apetencia natural hacia las grasas debido a que este grupo de alimentos posee una serie de propiedades: dan untuosidad a las preparaciones culinarias favoreciendo la masticación, mejoran el sabor y el aroma de los alimentos, y provocan una sensación de saciedad difícil de conseguir con una alimentación carente de ellas. Por lo mencionado, aunque el NRC (1989) y el Departamento de Nutrición (1996) sitúan a estos alimentos entre los de escaso y moderado consumo respectivamente, y las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) aconsejan que su uso se reduzca al exclusivamente necesario para el cocinado de los alimentos, la limitación en su ingesta debe estar en función de un contenido mínimo que haga que la dieta sea palatable (Dupont y col., 1991). En el colectivo de las personas mayores el consumo de grasas y aceites también debe ser moderado (Requejo y Ortega, 1995).

Hay que tener en cuenta que la ingesta de grasas con alto contenido en ácidos grasos saturados, particularmente de ácido mirístico, laurico y palmítico, es un factor de riesgo coronario por aumentar el colesterol plasmático (Nicolosi y col., 1990; Dupont y col., 1991; Hayes y Khosla, 1992; Katan y col., 1995; Caggiula y Mustad, 1997; Dietschy, 1997). No ocurre lo mismo con los aceites vegetales con alto contenido en ácido linoleico que reducen la fracción LDL-colesterol (Navarro y col., 1992; Sarkkinen y col., 1994; Katan y col., 1995; Dietschy, 1997) siendo en principio, por este motivo, teóricamente favorables para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Varela y col., 1991) como ya se comentará en el apartado 1.5.1.2. de esta revisión bibliográfica.

### 1.3.3.6. Grupo VI: Verduras y hortalizas

Los vegetales ocupan un importante papel en la alimentación al ser muy ricos en minerales, vitaminas, hidratos de carbono complejos y fibra (NRC, 1989; *US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990). Los que se toman crudos como las ensaladas, tomate, pimiento, pepino, zanahoria, etc., tienen una mayor riqueza en ácido fólico y otras vitaminas, sobre todo A y C, ya que éstas no se pierden por la cocción. Además estos alimentos al ser ricos en fibra tienen una función reguladora del intestino, combatiendo entre otros efectos el estreñimiento (Dwyer, 1988; NRC, 1989; *US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El NRC (1989) considera a las verduras y hortalizas dentro del grupo de los alimentos de libre consumo, siendo las recomendaciones de las *Dietary Guidelines* (*US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990) y del Departamento de Nutrición (1996) de 3 a 5 raciones al día tanto en la población general como en las personas de edad avanzada (Requejo y Ortega, 1995).

Entre las personas mayores el consumo de verduras y hortalizas es muy recomendable, ya que son fuente de minerales y vitaminas cuyo déficit es frecuente en este colectivo. Así, son ricas en potasio, reduciendo el riesgo de padecer apoplejía y disminuyendo la relación Na/K, de efecto favorable sobre la presión arterial. También son ricas en calcio, lo que reduce, al ser consumidas, el riesgo de padecer fracturas. Las hortalizas y verduras son la fuente más rica de folatos, déficit frecuente en las personas mayores (Ortega y col., 1992, 1996; Moreiras y col., 1993).

Además se ha encontrado una relación negativa entre la ingesta de verduras y el padecimiento de enfermedades cardiovasculares (Burr y Butland, 1988; Dwyer, 1988; NRC, 1989; *US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990; Den Ouden, 1996) y de ciertos tipos de cánceres, quizás por su contenido en carotenoides (NRC, 1989; Riemersma y col., 1991; Gey y col., 1993).

### 1.3.3.7. Grupo VII: Legumbres

Las legumbres son la base de la alimentación de muchos pueblos. Aunque la dieta española ha sido muy rica en estos alimentos en las últimas décadas se ha producido una reducción en su consumo debido a un cambio en los hábitos alimentarios de la población, ligado



entre otros aspectos a una forma más rápida y simplificada de preparación de las comidas (Cervera, 1995).

El valor nutritivo de las legumbres es fundamentalmente energético, ya que aunque escasean en grasas, son muy ricas en hidratos de carbono. Su contenido en proteínas también es importante, aunque al ser de origen vegetal tienen un valor biológico inferior al de las proteínas animales. Sin embargo, combinándolas con otros alimentos de origen vegetal, como los cereales, o de origen animal se convierten en excelentes alimentos y pueden utilizarse como sustitutos de las carnes (Grande y Varela, 1991; NRC, 1989; *US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990). Las legumbres son una buena fuente de vitaminas del complejo B, en especial de tiamina y niacina, y de minerales, sobre todo hierro, calcio y zinc (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El NRC (1989) considera a estos alimentos dentro de los de libre consumo, las *Dietary Guidelines* (*US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990) establecen unas recomendaciones de 2 a 3 raciones diarias de legumbres, carnes, pescados, huevos y frutos secos, y el Departamento de Nutrición (1996) considera adecuado un consumo diario de 6 a 10 raciones/día de legumbres y cereales en la población general y de 6 a 8 raciones en personas de edad avanzada (Requejo y Ortega, 1995). En las personas mayores es recomendable el consumo de legumbres porque constituyen una importante fuente de proteínas, vitaminas y minerales, y son pobres en grasas. Así, disminuyen los déficit nutricionales frecuentes en las personas de edad avanzada sin aumentar el riesgo de obesidad y enfermedad cardiovascular (NRC, 1989; *US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services*, 1990; Lówik y col., 1990).

#### **1.3.3.8. Grupo VIII: Frutas**

El valor nutritivo de las frutas es fundamentalmente vitamínico, sobre todo contienen vitamina C y  $\beta$ -carotenos (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995), nutrientes que se conservan intactos cuando estos alimentos se consumen crudos (Varela y Moreiras-Varela, 1986). Además tienen una relación vitamina B<sub>6</sub>/proteína relativamente alta (Lówik y col., 1990).

Las frutas son ricas en fibra sobre todo de tipo fermentable y en azúcares del tipo de la sacarosa y fructosa, pero su contenido energético es bajo. El aporte de grasa no tiene significación alguna y el aporte de proteínas es pequeño y de poco valor (Grande y Varela, 1991).

Mientras las recomendaciones de las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) y del Departamento de Nutrición (1996) son de 2 a 4 raciones diarias en la población general y en las personas de edad avanzada (Requejo y Ortega, 1995), el NRC (1989) considera a las frutas dentro de los alimentos de libre consumo, ya que su alto contenido en vitaminas y fibra soluble y su bajo contenido en grasas previenen contra enfermedades degenerativas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Burr y Butland, 1988; Dwyer, 1988; NRC, 1989; US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990).

Por otra parte los cítricos aumentan la absorción del hierro no hemo, recomendándose la ingestión de zumos de estas frutas durante las comidas (Herberg y col., 1991; McArdle y col., 1991).

#### **1.3.3.9. Grupo IX: Carne y derivados**

Las carnes son ricas en proteínas de alto valor biológico. El contenido en grasa varía mucho dependiendo del tipo de carne, oscilando de un 1 a casi un 20% (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). Estos alimentos son una buena fuente de vitaminas del grupo B, siendo el hígado también rico en vitaminas A y C. En cuanto a su contenido mineral destaca el de hierro de tipo hemo, zinc, magnesio y fósforo, en especial en las vísceras (Grande y Varela, 1991).

El NRC (1989) considera que el consumo de este grupo de alimentos debe ser moderado y las recomendaciones de las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) indican un consumo de 2 a 3 raciones al día para el total de carnes, pescados, legumbres, huevos y frutos secos. El Departamento de Nutrición (1996) recomienda consumir de 2 a 3 raciones diarias de carnes, pescados y huevos, lo que coincide con las recomendaciones en personas mayores (Requejo y Ortega, 1995).

Las dietas ricas en carne están relacionadas con la aparición de algunos cánceres y de enfermedades cardiovasculares (NRC, 1989), quizás debido al alto contenido de grasas saturadas que pueda tener este alimento. Por ello se debe consumir carne magra o sustituir ésta por legumbres y pescados (NRC, 1989; Dietary Guidelines, 1990; Lówik y col., 1990).

En los ancianos se recomienda el consumo de carnes poco grasas como la de las aves (NRC, 1989; US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990; Lówik y col., 1990), aunque es importante tener en cuenta que la carne de cerdo es muy rica en tiamina, vitamina con frecuencia deficitaria en este colectivo (García de Fernando, 1986; Grande y Varela, 1991).

Por otra parte, el deterioro dental en ancianos hace que el consumo de carne se vea disminuido en las personas de edad avanzada, con el consiguiente déficit nutricional de hierro, zinc, magnesio y determinadas vitaminas. Por ello se recomienda la ingesta de carne picada de más fácil masticación (Garry y col., 1982; Grande y Varela, 1991).

### 1.3.3.10. Grupo X: Pescados, moluscos y crustáceos

Los pescados son importantes fuentes de proteínas con una buena digestibilidad (NRC, 1989; Grande y Varela, 1991). El contenido en grasa varía aproximadamente de un 0,5 a un 20% dependiendo de la especie (Holland y col., 1994; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995; Sánchez-Muniz y col., 1997), pero en cualquier caso son ricos en ácidos grasos poliinsaturados n-3. Los pescados grasos son ricos en vitaminas liposolubles, sobre todo A, D y E. Entre los minerales que contienen destacan el iodo, calcio, fósforo y algunos elementos traza como el selenio (Grande y Varela, 1991; Varela y col., 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El NRC (1989) considera a los pescados dentro del grupo de los alimentos cuyo consumo debe ser moderado y las recomendaciones de las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) son de 2 a 3 raciones al día para el conjunto de pescados, carnes, legumbres, huevos y frutos secos. El Departamento de Nutrición (1996) indica un consumo de 2 a 3 raciones diarias para el total de carnes, pescados y huevos, tanto en la población general como en las personas mayores (Requejo y Ortega, 1995).

Como veremos más adelante en poblaciones con ingestas elevadas de pescado la incidencia de enfermedades cardiovasculares es menor (Kromhout y col., 1985; Sánchez-Muniz, 1987; Sanders, 1988; Varela y col., 1991; Eriksland, 1994; Álvarez-Sala y col., 1996; Connor, 1997). Esto es debido a que los ácidos grasos n-3, por una parte disminuyen los lípidos sanguíneos, entre ellos los triglicéridos, el contenido de VLDL-colesterol (Nestel, 1987) y probablemente de LDL-colesterol (Rustan y col., 1988; Katan y col., 1994), y por otra tienen un efecto antitrombótico por ser precursores de eicosanoides vasodilatadores y antiagregantes (Stone, 1990).

También la proteína de pescado parece presentar respecto a otras proteínas de origen animal como la carne propiedades potenciadoras de los efectos hipolipemiantes de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 (Viejo, 1992). La acción de la proteína de pescado sobre los lípidos plasmáticos ha sido revisada por Vázquez y Sánchez-Muniz (1994).

Además es importante considerar las conservas de pescado. Algunas de ellas como los pescados enlatados con aceite de oliva son muy recomendables desde el punto de vista nutricional, ya que suman al efecto beneficioso del pescado frente a la enfermedad coronaria el efecto beneficioso del aceite de oliva (Varela y col., 1991). Sin embargo otras conservas como salazones y ahumados deben ser consumidos de forma muy moderada por su posible relación con las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (NRC, 1989).

#### **1.3.3.11. Grupo XI: Bebidas**

Aunque tanto el NRC (1989) como las *Dietary Guidelines* (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990) no recomiendan el consumo de alcohol o en cualquier caso de forma escasa, existen estudios que relacionan un consumo moderado de bebidas alcohólicas de baja graduación con una reducción de enfermedades cardiovasculares y un aumento de los niveles de HDL-colesterol (Jacques y col., 1989). Un exceso en el consumo de alcohol, sin embargo, causa hipertensión, eleva los niveles de colesterol sérico y aumenta el riesgo de enfermedad coronaria, provoca problemas neurológicos y hepáticos, y muchas otras patologías (US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services, 1990; Lówik y col., 1990). Además el alcohol interfiere en la absorción, metabolismo y excreción de nutrientes, pudiendo causar malnutrición, sobre todo debido a un déficit de tiamina, vitamina B<sub>6</sub> y folatos (Lówik y col., 1990). Por estos motivos recientemente se ha señalado en un informe de la OMS (1994), que no existe ninguna justificación para aconsejar el consumo de alcohol o bebidas alcohólicas.

Respecto a las bebidas no alcohólicas, las bebidas excitantes como el café y el té aumentan la presión arterial (Lówik y col., 1990) y provocan molestias gástricas y aumento del peristaltismo intestinal en las personas de edad avanzada (Jiménez, 1991). Recientemente algunos investigadores (Van Rooij y col., 1995; Urgert y col. 1995) han demostrado la existencia en el café *Arábica* de cafestol y kahweol que incrementan en el plasma los triglicéridos, el colesterol total y su fracción LDL. Dichas sustancias parecen quedar retenidas en filtros de papel, por lo que se recomienda filtrar el café por papel durante su preparación. El NRC (1989) considera que estas bebidas deben ser consumidas con mucha moderación. También recomiendan esta ingesta en el caso de bebidas dulces y gaseosas cuyo valor es esencialmente calórico por su alto contenido en azúcares simples (Drewnowski, 1991).

#### **1.3.3.12. Grupo XII: Varios**

Dentro de este grupo se encuentran los chocolates, productos de pastelería, postres lácteos, patatas fritas y otros productos ricos a su vez en grasas e hidratos de carbono. Estos alimentos al ser fundamentalmente calóricos pueden contribuir a la instauración de la obesidad (Drewnowski, 1991). Por ello el NRC (1989) recomienda un consumo moderado de los mismos.

#### **1.3.4. Necesidades de energía y nutrientes**

Las personas de edad avanzada son un grupo de población muy heterogéneo y hay que considerar la dificultad de distinguir los cambios debidos a una enfermedad de aquellos debidos al envejecimiento, a una ingesta inadecuada, al impacto adverso de un bajo *status* socioeconómico o a una vida sedentaria (Feldman, 1993).

Las recomendaciones dietéticas para un anciano sano no difieren mucho de las recomendaciones de un adulto. Aunque existen evidencias de que con el envejecimiento aumentan las necesidades de vitaminas y minerales, los requerimientos de energía disminuyen significativamente. Por ello los ancianos deben de ingerir una dieta con una alta densidad en nutrientes, pero disminuyendo la cantidad de energía (Powers y Folk, 1992).

Las necesidades de hidratos de carbono, lípidos y proteínas dependen del tipo de actividad de cada anciano, pero deben guardar un equilibrio proporcional entre ellas en relación a las calorías de la dieta (Vera y col., 1987; Johnson y Kligman, 1992).

##### ***1.3.4.1. Necesidades de energía***

Con la edad se producen una serie de cambios que modifican los requerimientos nutricionales de energía que descienden un 20-15% respecto a los de adultos más jóvenes (Bidlack, 1990). Entre estos cambios encontramos:

- Cambios en el peso y en la composición corporal, ya que con la edad hay una tendencia a la adiposidad y pérdida de masa muscular; disminución del agua corporal total; pérdida de masa ósea y modificaciones del tejido conjuntivo, con pérdida de elasticidad (Chen, 1986; Ausman y col., 1994). Incluso si el peso se mantiene tiene lugar una reducción de masa corporal magra. Esta disminución de tejido activo dará lugar a un descenso del gasto y necesidades energéticas (Shock, 1984; Forbes, 1988).

- Disminución de la actividad física, debido a que las personas de edad avanzada son más inactivas y sufren más frecuentes incapacidades físicas (Shock, 1984; Fidanza, 1985;

Forbes, 1988; Horwath, 1989). Estas discapacidades y minusvalías plantean problemas no sólo en la adquisición y preparación de los alimentos sino también en la ingesta (Bianchetti y col., 1986; Moreiras, 1993).

- Disminución del metabolismo basal, sobre el que existe bastante discrepancia, aunque actualmente se acepta un descenso de un 3% por cada década (Herrero, 1989; Vaughan y col., 1991) y que se debe fundamentalmente a la reducción de masa magra, masa celular activa (Grande, 1985; James, 1989).

Por todo ello, el Departamento de Nutrición (1994) recomienda un descenso de la ingesta energética paralelo al incremento de edad que queda reflejado en el Cuadro 11.

Las recomendaciones FAO/OMS (1985) sugieren que debe considerarse la actividad física para determinar los requerimientos de energía, a pesar de que la tasa metabólica basal (TMB) sea el principal componente, por lo que propone una serie de ecuaciones de regresión que calculan la TMB en función de la edad y sexo (Cuadro 12).

Para el cálculo del gasto energético total se multiplica la TMB por unos coeficientes que se establecen en función del tipo de actividad física desarrollada. Sin embargo, como el modelo matemático de la FAO/OMS/ONU puede no ser suficientemente preciso, puesto que existen grandes variaciones intra e interindividuales, conviene tener en cuenta los datos obtenidos en estudios poblacionales sobre la ingesta energética usual de individuos que mantienen un peso corporal estable y dentro de los niveles de referencia (Truswell, 1990).

<i>EDAD (años)</i>	<i>ENERGÍA (kcal /día)</i>	
	<i>Varones</i>	<i>Mujeres</i>
40-49	2850	2185
50-59	2700	2075
60-69	2400	1875
+70	2100	1700

**Cuadro 11.** Ingestas de energía recomendadas por el Departamento de Nutrición (1994).

<i>EDAD(años)</i>	<i>TMB Varones</i>	<i>TMB Mujeres</i>
30-60	$[11,6 \times \text{peso (kg)}] + 879$	$[8,7 \times \text{peso (kg)}] + 829$
+60	$[13,5 \times \text{peso (kg)}] + 487$	$[10,5 \times \text{peso (kg)}] + 596$

**Cuadro 12.** Cálculo de la tasa metabólica basal (TMB) propuesto por la FAO/OMS (1985).

Es comprensible que todos los cambios asociados al proceso de envejecimiento hagan que el propio anciano modifique su ingesta calórica para adaptarse al descenso de las necesidades de energía. La disminución con la edad de la ingesta de energía, así como factores que la acentúan como la soledad, o que aumentan la ingesta calórica como el ejercicio físico, han sido bien documentados en diferentes estudios (Kaufmann y col., 1986; Munro, 1989; Powers y Folk, 1992; Lówik y col., 1994). La menor ingesta energética entre las personas mayores implica el riesgo de no disponer de la cantidad de nutrientes necesaria para satisfacer los requerimientos, y por lo tanto de padecer deficiencias nutricionales (Lówik y col., 1989; Fischer y Johson, 1990).

Sin embargo es frecuente también en las personas de edad avanzada, sobre todo en mujeres pertenecientes a un estrato social con ingresos medios, un exceso en la ingesta calórica a expensas de alimentos ricos en hidratos de carbono sencillos. Este balance energético positivo da como resultado la aparición de obesidad, que se ve acentuada por la escasa actividad física (Rojas, 1985; Lówik y col., 1994).

La obesidad indica un exceso de grasa corporal, considerándose tal si el índice de masa corporal es igual o superior a 30. Esta enfermedad está relacionada con un aumento considerable de la mortalidad, sobre todo cuando el IMC se sitúa por encima de 40 (Garrow, 1983), debido a que se asocia a multitud de síndromes tales como hipertensión, ateromatosis, diabetes, hiperuricemia, etc. Así, la obesidad es el factor más importante en la etiología de la hipertensión arterial (Einhorn y Landsberg, 1988; Stevens, 1993), independientemente de la ingesta de sodio (Huttunen y col., 1991). También es conocido que la ingesta calórica excesiva induce al sobrepeso o franca obesidad y tiene efectos adversos sobre todos los componentes del perfil lipídico, aumentando las cifras de colesterol sérico total, LDL-colesterol y triglicéridos y reduciendo los niveles de HDL-colesterol, incrementando así el riesgo de padecer aterosclerosis (Ros, 1994). Así, los individuos obesos (hombres o mujeres) tienen unos niveles de HDL-colesterol 5-10 mg/dL más bajos que los más delgados, como lo demuestran diversos estudios

epidemiológicos (Denke, 1993; Denke y col., 1993). Además, está demostrado que la reducción del peso, ya sea por reducción calórica o por ejercicio físico, aumenta los niveles de HDL-colesterol (Wood y col., 1991).

Por otra parte, esta reducción de peso constituye, en el obeso hipertenso, el método más eficaz para reducir la presión arterial por métodos no farmacológicos. La reducción en la ingesta calórica conlleva un menor riesgo de aparición de enfermedades cardiovasculares entre los ancianos (Einhorn y Landsberg, 1988; Johnson y Kligman, 1992). Sin embargo cuando la reducción calórica no sea posible, bien porque la variación de peso no sea deseable o bien porque se disminuya mucho la calidad de la dieta, se puede incrementar el ejercicio realizado por el anciano o bien recurrir a suplementos (De Leeuw y col., 1992).

Las Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (Ros, 1994) y el Comité de Expertos de la FAO/OMS (1990) señalan que la dieta saludable debería aportar calorías totales suficientes para alcanzar y mantener el peso deseable, el cual según la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (Aranceta, 1995) y la OMS-EURO (1987) se corresponde con un IMC entre 20 y 25 kg/m<sup>2</sup>.

#### **1.3.4.2. Necesidades de macronutrientes**

##### **1.3.4.2.1. Necesidades de proteínas**

Una de las manifestaciones del proceso de envejecimiento es la disminución de la síntesis de proteínas, por lo que las reservas proteicas del organismo disminuyen a medida que aumenta la edad produciéndose una pérdida de masa muscular (Fukagawa y Young, 1987; Morley y Mooradian, 1988). Esta disminución reduce la fuerza muscular y la resistencia en los ancianos. A pesar de esta deplección de masa muscular con la edad los requerimientos de proteínas no parecen estar reducidos (Bidlack y col., 1986).

El Departamento de Nutrición (1994) recomienda un consumo de proteínas para las personas mayores de 40 años de 54 g/día en varones y 41 g/día en mujeres, siendo estos valores algo diferentes a los aconsejados por el NRC (1989) que son de 63 y 50 g/día en varones y mujeres respectivamente. Además se recomienda que las proteínas aporten del 10 al 15% de las calorías totales (FAO/OMS, 1990; Grande y Varela, 1991; NRC, 1989). Sin embargo, la Sociedad Española de Arteriosclerosis (Ros, 1994) recomienda que la contribución de las proteínas al consumo calórico total debe ser del 12% al 16%, y los objetivos nutricionales para



España de la SENC (Aranceta, 1995) proponen que la ingesta de energía a partir de las proteínas sea del 13%.

Desafortunadamente la mayor parte de los ancianos presentan problemas en la masticación como consecuencia de dentaduras defectuosas, prótesis inadaptadas y un porcentaje cada vez más limitado de desdentados (Aranceta, 1988). El buen estado de la dentadura es muy importante, al igual que sucede con otros nutrientes, en el caso de las proteínas, ya que se ha demostrado la existencia de déficit proteicos en personas que tienen deteriorada su capacidad masticatoria (Nagao, 1992). La baja ingesta de proteínas en determinados grupos de población, como es el caso de personas afeadas, puede poner en peligro el aporte de otros nutrientes como el zinc, hierro y cobre (NRC, 1989).

En estos ancianos con ingestas de proteínas subóptimas se ha observado una disminución en la eficacia de utilización de éstas, con una pérdida potencial de tejido muscular y un balance de nitrógeno negativo (Gersovitz y col., 1982). En un estudio realizado en mujeres afeadas por Castaneda y col. (1995) se observó que el grupo de mujeres con ingestas proteicas inadecuadamente bajas experimentaba pérdidas significativas de tejido magro, respuesta inmune y función muscular, viéndose comprometida su capacidad funcional. Estos hechos han llevado a algunos autores a plantearse la necesidad de aumentar las recomendaciones de proteínas entre los ancianos (Pellet, 1990) a 1 g de proteína/kg de peso (NRC, 1989; Campbell y col., 1994). De hecho son varios los estudios que aconsejan elevar ligeramente las recomendaciones de proteínas en personas de edad avanzada (Munro y col., 1987; Castaneda y col., 1995), dado que el envejecimiento produce un deterioro en la digestión y utilización proteica (Horwath, 1989). También se observa en la población anciana un descenso en la biodisponibilidad de algunos aminoácidos, por lo que resulta conveniente cuidar la calidad de las proteínas de la dieta, especialmente en individuos con ingestas pobres (Kohrs, 1982). Se acepta que aproximadamente el 60% de los aportes debe proceder de origen animal y el 40% a partir de proteínas de origen vegetal. También debería prestarse especial atención a la ingesta proteica en estados hipercatabólicos.

La relación entre cantidad y calidad proteica no es bien conocida (Terpstra y col., 1982; Sánchez-Muniz y col., 1984), existen bastantes estudios en animales de experimentación que señalan que las proteínas de origen animal, como la caseína, tienen un efecto hipercolesterolemizante, mientras que las proteínas de origen vegetal, como la soja, ejercen una acción hipocolesterolemizante (Carrol y col., 1978; Terpstra y col., 1982; Sánchez-Muniz y col., 1984).

Los estudios en humanos con proteínas son controvertidos, ya que a menudo el cambio en la dieta de proteínas suele estar asociado también a un cambio en el consumo de ácidos grasos y/o colesterol, e incluso a un cambio en los niveles de hidratos de carbono y fibra ingeridos, por lo que los resultados están influidos por una serie de factores que son difíciles de controlar (Sánchez-Muniz y col., 1984; Vázquez y Sánchez-Muniz, 1994). No obstante algunos estudios en voluntarios señalan que la sustitución de un porcentaje elevado (~65%) de la proteína dietaria por caseína o soja conlleva efectos diferenciales sobre el colesterol transportado por lipoproteínas. En términos generales, los niveles plasmáticos no se ven afectados de forma marcada, pero parece existir un efecto significativo sobre el cociente de riesgo LDL-colesterol/HDL-colesterol, más elevado durante el periodo rico en caseína (Van Raaij y col., 1981; Beynen, 1990). Olson y col. (1958) fueron los pioneros en estos estudios, encontrando una relación entre consumo de proteínas de origen vegetal (4,2% de la ingesta total energética) y disminución del colesterol sérico en comparación con el consumo de proteínas de origen animal (16,7% de la energía total). Keys y col. (1957) tras administrar dos dietas en las que el aporte de proteínas representaba 69 y 132 g/día respectivamente, y en las que el aporte de grasa y colesterol dietario no se modificó, no encontraron diferencias en el colesterol sérico.

Es interesante el papel beneficioso que sobre el metabolismo del colesterol y de las lipoproteínas puede tener la proteína procedente del pescado. Esto es debido a que mejora el perfil lipoproteico, elevando en humanos los niveles de HDL-colesterol, aunque sin cambios en el cociente aterogénico colesterol total/HDL-colesterol (Vázquez y Sánchez-Muniz, 1994). En los estudios realizados con pescado (en su mayoría blanco) Sánchez-Corcoles y col. (1990) encontraron que éste disminuye la colesterolemia hasta cantidades de 90 g/día, pero que niveles mayores no aportaban mejores resultados. Jacques y col. (1992) estudiaron en quince mujeres postmenopáusicas, cuatro de las cuales eran hipertensas, el efecto de una dieta en la que el 70% de las proteínas procedía de pescado blanco y el resto eran proteínas de origen vegetal, observando que disminuía el colesterol total y su fracción VLDL en comparación con su dieta habitual. Además al comparar estas dietas con otra en la que el 75% de las proteínas eran de origen animal observaron que el colesterol total y la fracción LDL-colesterol disminuía respecto a la dieta habitual, y el colesterol total y el HDL-colesterol disminuían respecto a la dieta rica en proteína de pescado, mientras que el VLDL aumentaba y el cociente aterogénico colesterol total/HDL-colesterol no sufría cambios. En individuos con hiperlipemia IIb y IV que seguían una dieta rica en pescado se ha observado una disminución de la VLDL-colesterol, sin cambios en el colesterol total ni en su fracción HDL con respecto a su dieta habitual (Olivan y col., 1988).

La mayoría de los ancianos tienen ingestas de proteínas que superan el 15% del total calórico (Munro y col., 1987). La ingesta de proteínas no debe superar nunca el doble de la ingesta recomendada para cada grupo de edad (NRC, 1989), dado que el aporte proteico excesivo comporta un mayor riesgo de sufrir algunos cánceres y enfermedades coronarias (Ojofeitimi, 1988) e incrementa la pérdida urinaria de calcio (NRC, 1989). También parece claro que las dietas con un elevado contenido proteico y con exceso de sal aumentan la pérdida de masa ósea (Riggs y Melton, 1986; James y col., 1988). Este hecho es especialmente importante en mujeres posmenopáusicas donde el riesgo de padecer osteoporosis aumenta. Seskanich y col. (1996) llevaron a cabo un estudio prospectivo en mujeres con edades comprendidas entre 35 y 59 años, encontrando una asociación positiva entre el riesgo de sufrir fractura de antebrazo y una ingesta de proteínas superior a 95 g/día, esta asociación se mantenía en mujeres cuya principal fuente de proteína era de origen animal. Así, en el caso de que hubiese que reducir la ingesta excesiva de proteínas en personas arias se debería disminuir el consumo de carne e incrementar el de pan integral, yogurt y vegetales de hojas verdes, ya que así aumentaría la ingesta de minerales sin aumentar la de proteínas (De Leeuw y col., 1992).

#### 1.3.4.2.2. Necesidades de hidratos de carbono

Las personas de edad avanzada sufren trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono de absorción rápida, con mayor resistencia a la utilización de la glucosa posiblemente debido a un déficit en los depósitos de glicógeno (Mertz, 1989). A pesar de esta menor capacidad de metabolizar este macronutriente, el NRC (1989) no señala diferencias entre la ingesta recomendada de hidratos de carbono en ancianos respecto a adultos más jóvenes. En dichas recomendaciones se indica que la cantidad mínima necesaria de hidratos de carbono para prevenir los efectos de una baja ingesta de este macronutriente, tales como un catabolismo acelerado de las proteínas dietéticas y tisulares, pérdida de cationes (sobre todo sodio) y deshidratación, es de 50 a 100 gramos diarios. Sin embargo, a efectos de equilibrar el perfil calórico sería recomendable ingerir una cantidad equivalente al 55-60% de la ingesta energética total, es decir, al menos 250 gramos de hidratos de carbono en una dieta de 2.000 kcal/día.

Según los objetivos nutricionales propuestos por el grupo de expertos FAO/OMS (1990), se establece como límite inferior para la ingesta de hidratos de carbono el 55% de la energía y como límite máximo el 75%, así mismo se propone que el aporte de hidratos de carbono complejos represente como mínimo el 50% de la energía, restringiendo el consumo de azúcares

simples refinados a un máximo del 10%. Estos objetivos nutricionales coinciden con los propuestos por la SENC (Aranceta, 1995).

Las recomendaciones del Comité de la Academia Nacional de Ciencias sobre Dieta y Salud de Estados Unidos (*National Academy of Sciences*, 1989) indican que se debe incrementar el consumo de hidratos de carbono, puesto que en la mayoría de los casos está disminuido en beneficio de la ingesta de lípidos y proteínas. Este aumento debe realizarse a expensas de hidratos de carbono complejos (NRC, 1989) y de azúcares sencillos (Ojofeitimi, 1988; Van Dokkum y col., 1991), ya que los hidratos de carbono tienen efectos distintos sobre los lípidos plasmáticos según sean simples (sacarosa) o complejos (almidones); los primeros aumentan los triglicéridos y reducen las HDL, mientras que los segundos reducen discretamente el colesterol. Además, el consumo de dietas ricas en azúcares sencillos implica normalmente ingestas bajas en fibra e hidratos de carbono complejos y se relacionan con la aparición de enfermedades como hemorroides, cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Morley y Mooradian, 1988; Ojofeitimi, 1988; Bidlack, 1990).

Cuando los hidratos de carbono se utilizan como sustitutos del exceso de grasa saturada producen un descenso en el colesterol total y en el colesterol transportado por las LDL pero también de la fracción transportada por las HDL (Kris-Etherton y col., 1988; Brinton y col., 1990; Van Dokkum y col., 1991). Dietas muy bajas en grasas y con alto contenido en hidratos de carbono disminuyen los niveles séricos de HDL-colesterol y aumentan los triglicéridos en las VLDL. Algunos autores sostienen que si este consumo de hidratos de carbono se produce sin un exceso calórico la hipertrigliceridemia parece ser un efecto transitorio, hecho apoyado por el hallazgo epidemiológico de que poblaciones que tienen dietas bajas en grasa no tienen niveles elevados de triglicéridos (Grundey y Denke, 1990), pero la mayoría de los estudios (West y col., 1990; Denke, 1993) revelan que estos efectos persisten durante periodos de tiempo muy prolongados. Sin embargo, en estas poblaciones no parece existir un mayor riesgo de cardiopatía coronaria debido a que poseen niveles bajos de LDL-colesterol, consecuencia de su dieta pobre en grasas saturadas y colesterol. Sin embargo, Jeppesen y col. (1997) en un estudio en mujeres posmenopáusicas observaron que este tipo de dietas si aumentaba el riesgo de enfermedad cardiovascular. Además, los estudios acerca de la composición de lipoproteínas sugieren que las dietas muy pobres en grasas y ricas en hidratos de carbono producen "VLDL esponjosas", diferentes de las VLDL densas ricas en colesterol observadas en los estados anormales hereditarios del metabolismo de los triglicéridos (Ginsberg, 1990; Denke, 1993). En cualquier caso, este tipo de dietas son poco variadas y palatables debido a su bajo contenido en grasas, y por tanto mal aceptadas por la población occidental. La mayor prevalencia de hipertensión

arterial en poblaciones que consumen estas dietas ricas en hidratos de carbono está relacionada probablemente con un mayor consumo de sal para hacerlas más palatables. Pueden favorecer además la osteoporosis por disminuir la absorción intestinal de calcio y aumentar su pérdida renal (Grundy, 1989). Por otra parte, los hidratos de carbono son con frecuencia fuente de exceso calórico en la dieta, lo que trae consigo una serie de problemas adicionales tales como la obesidad y por consiguiente mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

### 1.3.4.2.3. Necesidades de lípidos

#### Consumo absoluto y relativo

La WHO/FAO (1995) nos recuerda que la ingesta de cantidades adecuadas de grasa es esencial para la salud. Además de contribuir a las necesidades energéticas, la ingesta de grasa dietaria debe satisfacer los requerimientos de ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles. La ingesta mínima de grasa que garantice la salud cambia en función de variables individuales. De todos modos, la ingesta mínima recomendada para la mayoría de los adultos debería cubrir al menos el 15% de la ingesta calórica. El margen superior puede ser más permisivo si se trata de individuos activos, pudiendo elevarse al 35% del aporte energético total si sus ingestas de ácidos grasos esenciales y de otros nutrientes es adecuada, y los niveles de ácidos grasos saturados no exceden del 10% de la energía consumida. En el caso de individuos sedentarios la contribución de la grasa no debería superar el 30% de su aporte energético, particularmente si tienen un consumo elevado de grasa saturadas (WHO/FAO, 1995).

La Asociación Americana del Corazón (*National Heart, Lung, Blood Institute*, 1988), el Comité de la Academia Nacional de Ciencias sobre la Dieta y Salud de Estados Unidos (*National Academy of Sciences*, 1989), el NRC (1989) y el Ministerio de Sanidad y Consumo (1991), recomiendan reducir la ingesta total de grasa al 30% o menos del total de la ingesta energética. Los objetivos nutricionales marcados por la OMS-EURO (1987) para Europa marcan una ingesta de grasa entre el 20 y el 30% del total de la ingesta calórica.

La Sociedad Española de Arteriosclerosis en 1994 (Ros, 1994) aconseja que el aporte energético lipídico esté entre el 30 y el 35% de las kcal totales aportadas por la dieta para prevenir la aparición de enfermedades cardiovasculares. Estas recomendaciones son más permisivas que las expuestas en el párrafo anterior, tengamos en cuenta que una de las características de la dieta mediterránea es su alto contenido en grasa. La SENC (Aranceta, 1995) determinó como objetivo nutricional para España el consumo de menos del 35% de las kcal en

forma de grasa, siempre y cuando se utilice habitualmente aceite de oliva, en caso de no ser así los objetivos sólo permiten que sea menor que el 30%.

A pesar de ello, hay que tener en cuenta que una disminución en la dieta en el % de kcal aportadas por la grasa por debajo del 20% reduce en exceso la ingesta de vitaminas liposolubles (Dupont y col., 1991), y puede poner en peligro el *status* vitamínico del anciano. También, es bien sabido que si la dieta tiene un contenido de grasa inferior a un 25% de su valor calórico, es decir, unas 10 veces más que las necesidades de ácidos grasos indispensables (del orden de un 2,5% que corresponde a unos 6 a 8 g de ácido linoleico por día), tal dieta no es apetecible, y no va a ser aceptada por la mayoría de las personas (Grande y Varela, 1991). Además hay que tener en cuenta que aunque la ingesta sea relativamente elevada con la edad se produce un descenso en la secreción de bilis y de lipasa pancreática, que condiciona un deterioro en la digestión y absorción de la grasa de la dieta (Hosoda y col., 1992). Concretamente la SENC (Aranceta y Pérez, 1995) dice que las recomendaciones respecto a la ingesta de grasa para el colectivo de ancianos son similares a las dirigidas a otros grupos de población, con aportes que no superen el 35% de la ingesta energética.

### Perfil lipídico

Según la Asociación Americana del Corazón (*National Heart, Lung, Blood Institute*, 1988), el Comité de la Academia Nacional de Ciencias sobre la Dieta y Salud de Estados Unidos (*National Academy of Sciences*, 1989), el Ministerio de Sanidad y Consumo (1991) y la WHO/FAO (1995), la ingesta de ácidos grasos saturados por parte de los individuos no debe ser superior al 10% de las calorías totales de la dieta, siendo bastante probable que una reducción al 8 o 7% del aporte calórico produzca mayores beneficios para la salud. Este tipo de reducciones puede lograrse sustituyendo los ácidos grasos saturados de la dieta por ácidos grasos monoinsaturados y elevando el consumo de hidratos de carbono complejos (Van Dokkum y col., 1991).

La SENC (Aranceta, 1995) indica como objetivo nutricional para España que la ingesta de grasa saturada debe ser menor del 10% de la ingesta calórica total y que en el anciano debe representar entre el 7 y el 10%, es decir similar al de otros grupos de población (Aranceta y Pérez, 1995). La ingesta de ácidos grasos monoinsaturados debe ser de al menos un 13% del total de las kcal (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1991), para los ácidos grasos poliinsaturados señalan que deben aportar menos del 10% de las calorías totales y su ingesta media se ha de mantener alrededor del 7% del total de las calorías. El grupo de Connor (1986)

señala que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados debe ser del orden del 8%. Los requerimientos de ácidos grasos poliinsaturados n-6 pueden cubrirse tomando 1-2% de calorías en forma de ácido linoleico (3-6 g/día) (*National Heart, Lung, Blood Institute*, 1988; NRC, 1989; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1991). La WHO/FAO (1995) marca como ingestas deseables de linoleico entre el 4 y el 10% de la energía, siendo recomendables ingestas cercanas al margen superior cuando las ingestas de ácidos grasos saturados y de colesterol sean relativamente elevadas. Sin embargo, según las recomendaciones para la población española (Departamento de Nutrición, 1994) la ingesta de ácido linoleico debe encontrarse entre el 3 y 6% de la energía total consumida, valores bastante similares a los objetivos nutricionales para la población según la OMS (1990) que recomienda que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados oscile entre el 3 y el 7% de las kcal totales ingeridas para disminuir el riesgo de enfermedades crónicas.

Al valorar la calidad de una dieta no sólo hay que tener en cuenta la cantidad total de ácidos grasos poliinsaturados, sino también el contenido de ácidos grasos de cada familia (n-6 y n-3) y la proporción que guardan entre sí, ya que los efectos beneficiosos, tanto en lípidos sanguíneos como en lípidos de membranas celulares, han sido atribuidos a una relación disminuida n-6/n-3 (Sánchez-Muniz y col., 1991; Sánchez-Muniz y col., 1992). La *British Nutrition Foundation* (1992) y *The International Conference on Highly Unsaturated Fatty Acids in Nutrition and Disease Prevention* (Barcelona, 1996) recomiendan una ingesta media en el adulto de ácidos grasos poliinsaturados del 7,5% de la energía total de la dieta, siendo el 6% procedente de los n-6 y un 1,5% de los n-3, suma de los ácidos grasos  $\alpha$ -linolénico, eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). La cantidad en gramos de ácidos grasos poliinsaturados recomendadas para salvaguardar la salud en la mujer adulta es de: 6-20 g de ácido linoleico, 1-5 g de ácido  $\alpha$ -linolénico y 0-4 g de EPA junto con el DHA. La relación entre los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico de una dieta, según la WHO/FAO (1995), debería estar entre 5:1 y 10:1, de todos modos para los individuos con una relación cercana a 10:1 sería aconsejable que consumieran más alimentos ricos en n-3 como vegetales, legumbres, pescados y otros alimentos marinos. No obstante, se ha visto que un consumo excesivo de ácidos grasos poliinsaturados n-6 (~12% de la energía total) puede repercutir negativamente en los niveles de HDL-colesterol e incrementar el riesgo de cálculos biliares. Sin embargo, si el consumo excesivo es de ácidos grasos poliinsaturados n-3 afecta principalmente a la trombogénesis, agregación plaquetaria y respuesta inmune (*British Nutrition Foundation*, 1992), siendo controvertidos los efectos sobre los niveles de HDL-colesterol (Harris, 1997).

La SENC (Aranceta, 1995) marca como objetivo nutricional para el total de la población española que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados sea inferior al 10% del total de la ingesta calórica. En personas de edad avanzada recomienda que el aporte de estos ácidos grasos no supere el 8% (Aranceta y Pérez, 1995).

El Acuerdo de Consenso sobre el Control de la Colesterolemia en España (Comité Organizador del Acuerdo del Consenso, 1989) sugiere que la contribución de los ácidos grasos saturados a la energía total no supere el 10%, situándose alrededor del 7%; también la contribución energética de los ácidos grasos poliinsaturados debe ser inferior al 10%. Según las últimas recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis (Ros, 1994), la contribución energética de los ácidos grasos saturados debe ser inferior al 10%; los ácidos grasos monoinsaturados entre el 15-20% y los ácidos grasos poliinsaturados no deben superar el 7%. Como ocurría anteriormente aparece más permisibilidad en estas cifras respecto a la proporción de ácidos grasos monoinsaturados a costa de los ácidos grasos poliinsaturados, al tratarse de unas recomendaciones específicas para la sociedad española donde el consumo de aceite de oliva, rico en ácidos grasos monoinsaturados, es bastante elevado.

Resumiendo, las recomendaciones para el colectivo de ancianos respecto a la ingesta de grasa son similares a las dirigidas a otros grupos de población, con aportes que no superen el 35% de la ingesta energética. La relación lipídica debe presentar una estructura de acuerdo con el siguiente esquema: las grasas saturadas deben representar entre el 7 y el 10%; las grasas poliinsaturadas no más del 8% y el resto debe aportarse a partir de grasas monoinsaturadas (Aranceta y Pérez, 1995).

### Ingesta de colesterol

En las personas de edad avanzada la ingesta de colesterol debe ser inferior a 300 mg/día, aunque reducciones mayores (hasta 250 o 200 mg/día o incluso menos) pueden ser beneficiosas para la salud (*National Heart, Lung, Blood Institute*, 1988; NRC, 1989; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1991; WHO/FAO, 1995). Sin embargo, algunos autores como Morley y Mooradian (1988) y Chandra y col. (1991) consideran que existen evidencias contradictorias respecto al beneficio que supone una restricción estricta de grasas y colesterol en la dieta de los ancianos, como medida encaminada a la reducción de los niveles séricos de colesterol, dado que podría verse comprometida la ingesta de energía y nutrientes.

La Sociedad Española de Arteriosclerosis (Ros, 1994) coincide en recomendar 300 mg/día como ingesta máxima de colesterol para que la dieta sea cardiosaludable. En cualquier



caso, se recomienda que la ingesta de colesterol en la dieta sea menor de 100 mg/1000 kcal (OMS-EURO, 1987; NRC, 1989), cifra que también está entre los objetivos nutricionales propuestos por la SENC (Aranceta, 1995) para la población española, pero hay que tener en cuenta que las recomendaciones que han servido de base para establecer las normas encaminadas a controlar la colesterolemia de la población han sido realizadas en adultos y su validez en personas de edad avanzada no ha sido constatada, por lo que una reducción estricta de la grasa y colesterol dietario podría poner en peligro la ingesta de otros nutrientes.

### Índices de calidad de la dieta

Para valorar si una dieta es saludable desde el punto de vista cardiovascular, se utiliza el cociente ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados, que se aconseja que sea 1 (WHO, 1986; OMS-EURO, 1987). Sin embargo este índice tiene poco valor en poblaciones mediterráneas donde la grasa de la dieta es rica en ácido oleico (aceite de oliva), ya que se enriquece la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados a costa de los ácidos grasos saturados, lo que no se tiene en cuenta en este cociente. Sin embargo, en países como Noruega y los Países Escandinavos, donde es frecuente el consumo de pescado y su aceite, los objetivos nutricionales se basan en este cociente, cifrándose en 1,2.

El cociente [ácidos grasos poliinsaturados + ácidos grasos monoinsaturados]/ácidos grasos saturados subsana las deficiencias expuestas del anterior cociente, y debe tener un valor mayor a 2 (Aranceta, 1995). Teniendo en cuenta que tradicionalmente el aceite de oliva está unido a nuestra gastronomía, y es una fuente muy rica de ácidos grasos monoinsaturados, no es de extrañar el hecho de que en nuestra población se utilice este segundo cociente para valorar la calidad grasa.

Las recomendaciones dietéticas generales para la prevención de las enfermedades coronarias siempre indican la reducción de las ingestas de grasa saturada y de colesterol, y la permanencia de la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados en aproximadamente un 8% de las kcal consumidas. La ecuación de Zilversmit (1979) se usa para predecir los efectos absolutos de las diferentes dietas sobre los niveles de colesterol de un modo individual (Connor y col., 1986).

$$IC = 1,01 \times (g \text{ grasa saturada} - 0,5 \times g \text{ grasa poliinsaturada}) + (0,05 \times mg \text{ colesterol})$$

IC: Índice de colesterol expresado por 1000 kcal.

Este índice no tiene en cuenta la cantidad de grasa monoinsaturada de la dieta por lo que su estudio en colectivos cuya ingesta de este tipo de grasa es elevada, como es el caso de los países que consumen la dieta mediterránea, puede proporcionar datos poco precisos.

Otros índices que definen la calidad de la dieta son:

- El índice de colesterol-grasa saturada (ICGS), calculado por la fórmula de Connor y col. (1986) y expresado por 1.000 kcal de la dieta que señala valores recomendados para la prevención de la enfermedad cardiovascular entre 8,2 y 17,5.

$$\text{ICGS} = (1,01 \times \text{g grasa saturada}) + (0,05 \times \text{mg colesterol})$$

Este índice es un indicador del potencial hipercolesterolémico y aterogénico de una dieta o alimento (Watts y col., 1996), sin embargo presupone que la ingesta de grasa poliinsaturada es constante y del orden de un 8% de las kcal totales.

- El índice de Keys, Anderson y Grande (KAG) (Grande, 1979) para 1.000 kcal:

$$\text{KAG} = 1,35 \times [(2 \times \% \text{ kcal AG saturados}) - \% \text{ AG poliinsaturados}] + 1,5 \times Z^{1/2}$$

*AG: ácidos grasos; Z: mg de colesterol/1000 kcal*

Este índice considera sólo el aporte a las kcal totales de la dieta correspondiente a los ácidos grasos saturados y poliinsaturados.

#### 1.3.4.3. Necesidades de fibra

La fibra alimentaria tiene una serie de propiedades que la hacen muy importante en la alimentación humana. Entre ellas está la de estimular el peristaltismo intestinal, evitando la formación de divertículos intestinales y favoreciendo la evacuación intestinal dada su capacidad higroscópica produciendo así un ablandamiento de las heces (Everson y col., 1992; Zhang y col., 1992; Marlett y col., 1994). Es fundamental que la dieta de las personas mayores contenga una gran cantidad de alimentos ricos en fibras vegetales para así evitar el estreñimiento, y mantener la adecuada motilidad intestinal (Van Dokkum y col., 1991; Cherbut y col., 1994). Las verduras y el pan integral tienen un gran interés en este sentido (Lederle, 1995; Balson y col., 1995).

Organismos como la FAO/OMS (1990) recomiendan respecto a la ingesta de fibra alrededor de 27-40 g, lo que se ajusta a las recomendaciones propuestas por la SENC (Aranceta,

1995) que estima una ingesta de fibra total superior a 25 g/día. *The Federation of American Societies for Experimental Biology* recomienda valores similares a los citados, 20-35 g/día (Pilch, 1987). Sin embargo, algunos autores sitúan una recomendación superior de fibra alimentaria entre 35-45 g/día la cual debería de ser aportada fundamentalmente por cereales (Spiller, 1986).

Dada su baja contribución al suministro energético las fibras presentes en una comida podrían incrementar su masa y volumen y disminuir su densidad energética. Esto se traduce en un efecto de saciedad. En consecuencia, la ingesta energética global puede ser reducida (100-200 kcal/día) conduciendo a un ligero descenso en la ingesta de grasa y colesterol, de hecho diversos estudios sugieren que el consumo de fibra tiene un efecto sobre la ingesta total de energía y el peso corporal, disminuyéndolo, (Blundell y Burley, 1987; Lairon, 1996; Sánchez-Muniz, 1997). El consumo de fibra aumenta la viscosidad del contenido estomacal y del intestino delgado, reduciendo la absorción de agua y nutrientes solubles a nivel del estómago, y disminuyendo la digestibilidad de lípidos a nivel del intestino delgado, con la consiguiente reducción en los niveles de colesterol total y LDL-colesterol en sangre (Marlett, 1994; Lairon, 1996) como veremos más adelante. Además un enlentecimiento y disminución en la entrada de glucosa y otros nutrientes al torrente circulatorio, que promueven entre otros aspectos menor modificación de la glucemia postprandial y en consecuencia de la insulinemia postprandial (Sánchez-Muniz, 1997). Como sabemos la diabetes no insulino dependiente es común entre los ancianos obesos. El consumo de fibra podría paliar en cierto modo esta situación, dado que no sólo actuaría modificando el peso corporal, sino que el incremento en el consumo de fibra se ha asociado con una mejora de la tolerancia a la glucosa (Bidlack, 1990; Cherbut y col., 1994). Se han atribuido a la fibra efectos como el mejor control de la glucemia en diabéticos, la disminución de la lipemia postprandial y de la hipertrigliceridemia producida por hidratos de carbono (Anderson y col., 1980).

Las dietas ricas en fibra se han relacionado con un cierto efecto protector frente algunos tipos de cáncer (colon y recto), un posible mecanismo para explicar el efecto anticancerígeno es el paso rápido de la masa digestiva a través del colon, lo que reduciría la posibilidad de que los carcinógenos potenciales puedan interactuar con la superficie de la mucosa (NRC, 1989). Ferguson y col. (1995) observaron que las fibras dietarias insolubles son más efectivas que las solubles en la prevención del desarrollo de cáncer colorectal ya que las primeras son muy eficaces en la adsorción de carcinógenos hidrofóbicos. Estudios control en diversas poblaciones del mundo concluyen en una asociación negativa entre el riesgo de padecer cáncer de mama y la ingesta de fibra e hidratos de carbono dietarios (Stoll, 1996). Se han sugerido varios mecanismos

de acción para explicar este efecto, todos ellos apuntan a una reducción de los niveles de estrógenos en sangre, por una parte una dieta alta en fibra reduce la circulación enterohepática de los estrógenos y además estas dietas altas en fibra e hidratos de carbono mejoran la respuesta de la insulina, este efecto es muy importante ya que el desarrollo de resistencia a la insulina no sólo incrementa el riesgo de hipertensión y aterosclerosis sino también el riesgo de cáncer de mama (Stoll, 1996). Sin embargo, no existe una evidencia determinante de que la fibra alimentaria por si misma ejerza un efecto protector superior a la de otros componentes de los alimentos ricos en este tipo de hidratos de carbono (Spiller, 1986; Dremer, 1987).

Una dieta baja en fibra se ha asociado a una alta incidencia de enfermedad coronaria. Por el contrario, dietas ricas en fibras solubles disminuyen el colesterol total y su fracción LDL, sin cambios notables en los niveles de HDL-colesterol y triglicéridos (Cherbut y col., 1994; Marlett y col., 1994; Lairon, 1996). Estos efectos se han visto que son más marcados en sujetos hipercolesterolémicos que en normocolesterolémicos (Davidson y col., 1996; Lairon, 1996). Sin embargo, Anderson (1983) y Hagander y col. (1989) observaron que el consumo de una dieta enriquecida en fibra si aumentaba los niveles de HDL-colesterol además de disminuir la presión arterial.

En obesos y diabéticos tipo II con hipertrigliceridemia también se ha visto una reducción en los niveles de triglicéridos en sangre (Lairon, 1996). Anderson y Tietzen-Clark (1986), Jenkins y col. (1993) y Marckmann y col. (1994), realizaron estudios con sujetos hiperlipémicos estableciendo una dieta baja en grasa y en colesterol y suplementada con fibra soluble procedente de varias fuentes alimentarias, observándose una bajada significativa del colesterol total y del LDL-colesterol alrededor del 4 al 15%, también se ha demostrado este efecto con alimentos tales como manzanas y judías los cuales son importantes fuentes de pectinas (Anderson y Gustafson, 1988). Estas modificaciones se asocian con un descenso en la morbilidad por enfermedades cardiovasculares (Bidlack, 1990; Fauré, 1990; Lairon, 1996).

La fibra soluble tiene un efecto hipocolesterolemizante por su capacidad quelante de ácidos biliares y colesterol, aumentando su eliminación fecal (Stone, 1990; Lairon, 1996). Esta pérdida es compensada en parte por un aumento de la síntesis *de novo* de sales biliares primarias a partir de colesterol y gracias a la enzima  $7\alpha$ -hidrolasa, por lo que a su vez se incrementa la demanda de colesterol a nivel del hígado. A raíz de ello se incrementa la síntesis *de novo* de colesterol en el hígado o se estimula su captación a partir de las lipoproteínas que lo transportan, sobre todo regulando el receptor para la LDL (Horton y col., 1994; Lairon, 1996). Algunos autores afirman que la fibra además produce simultáneamente un descenso en la fracción HDL-colesterol condicionando que no haya modificaciones significativas del cociente colesterol

total/HDL-colesterol (Jenkins y col., 1993). Además el efecto hipocolesterolemizante de la fibra es significativo sólo con ingestas elevadas que son limitadas por efectos secundarios gastrointestinales (flatulencia, meteorismo...), siendo útil únicamente como medida asociada a los cambios esenciales en la ingesta de grasa.

Como resumen, de la gran cantidad de trabajos de investigación y clínicos realizados durante las tres últimas décadas se puede concluir que las fibras solubles disminuyen el colesterol total y su fracción LDL sin efectos notables sobre el HDL-colesterol y los triglicéridos sanguíneos, especialmente en sujetos hipercolesterolémicos. Sin embargo, se han encontrado reducciones en los triglicéridos en obesos o sujetos diabéticos con hipertrigliceridemia tipo II que consumían dietas altas en fibra.

A pesar de estos datos, el Comité de la Academia de Ciencias sobre Dieta y Salud (*National Academy of Sciences*, 1989) no recomienda el uso de suplementos de fibra dado que una excesiva cantidad de fibra en la dieta disminuye la absorción de algunas vitaminas como  $\beta$ -carotenos, vitaminas B<sub>12</sub> y E (Bidlack y col., 1986; Hurrell y col., 1992), pudiendo en situaciones de ingestas bajas de vitaminas incidir en el *status* nutricional.

Las fibras también se unen a elementos minerales. De este modo, el salvado de trigo puede interferir con la absorción de minerales, aunque no parece que el salvado ni otras fibras, a los niveles consumidos en Estados Unidos y otros países, tengan un efecto apreciable sobre tal absorción (NRC, 1989). Pushpanjali y Khokhar (1996) realizaron un estudio en niños, adolescentes, adultos y ancianos que seguían dietas vegetarianas, ricas en fibra, y observaron un coeficiente de correlación negativo entre el contenido en fibra y la disponibilidad del hierro y zinc lo que sugiere que existen algunas interacciones entre estos minerales y la fibra que se ingiere.

Es importante también el estudio de Dorgan y col. (1996) que demuestran que una alta ingesta de fibra disminuye la concentración de estrógenos sanguíneos en mujeres premenopáusicas, aumentando así el riesgo de osteoporosis y enfermedad cardiovascular.

#### **1.3.4.4. Necesidades de vitaminas**

En las personas mayores las deficiencias vitamínicas son bastante frecuentes, al igual que en otras poblaciones debido, entre otros aspectos, a que la población de edad avanzada ingiere alimentos poco variados y a que los procesos de absorción y metabolización que condicionan la biodisponibilidad de nutrientes están afectados. Las consecuencias de estas carencias son mucho más graves ya que de por sí los ancianos tienen las necesidades

aumentadas de determinadas vitaminas (Brubacher, 1989; Millen-Posner, y col., 1994). Además las personas de edad avanzada padecen una serie de enfermedades que pueden influir en la absorción de vitaminas o provocar su carencia (Franz, 1981; Morley, 1986; Morley y Mooradian 1988). El déficit de determinadas vitaminas puede afectar a la función cognoscitiva (Rosenberg y Miller, 1992; Riggs y col., 1996).

#### 1.3.4.4.1. Vitaminas liposolubles

##### Vitamina A

En el mundo occidental las principales fuentes de vitamina A en la dieta la constituyen el hígado, las frutas y verduras, y las grasas (Pickle y Hartman, 1985; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995; Nutrition Reviews, 1996).

El Departamento de Nutrición (1994) y el NRC (1989) recomiendan una ingesta diaria de vitamina A de 800 µg en mujeres mayores de 40 años. Diversos estudios realizados en personas mayores muestran que más de la mitad de las personas mayores ingieren menos de 2/3 de las ingestas recomendadas de esta vitamina (Bidlack, 1990). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el hígado mantiene los depósitos de vitamina A e incluso éstos pueden aumentar con la edad, por lo que aunque la ingesta no sea la adecuada esto no se refleja en los niveles séricos de dicha vitamina (Sutter y Russel, 1987; Bildlack, 1990). Además, el envejecimiento está asociado a una disminución de los requerimientos de este nutriente y a un aumento de su absorción intestinal, por lo que en caso de suplementación con esta vitamina se puede producir toxicidad debido a su acumulación hepática (Krasinski y col., 1990).

La vitamina A además de mejorar el sistema inmunitario de las personas de edad avanzada (Meydani y col., 1995), muestra un efecto beneficioso frente al padecimiento de cataratas (Jacques y col., 1989; Carter, 1994) y en el tratamiento de algunos desórdenes dermatológicos (Shankar y col., 1986). Además se ha relacionado un déficit de vitamina A con el desarrollo de cáncer (Gey y col., 1987; Ziegler, 1991; Hennekens, 1994; Van Poppel y Goldbohm, 1995; Albanes y col., 1997; Nyerenberg y col., 1997) y con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Gey y col., 1993; Gaziano y Hennekens, 1993; Jha y col., 1995). Algunos autores niegan que el retinol tenga alguna acción en la prevención de éstas últimas (Kok y col., 1987; Riemersma y col., 1991), pero muchos están de acuerdo en que los β-carotenos sí presentan esta acción (Jha y col., 1995; Van Poppel y Goldbohm, 1995).

### Vitamina D

Las fuentes de vitamina D en los alimentos son escasas, ya que excepto el pescado azul el resto de los alimentos tiene un bajo contenido en este nutriente (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). Es por ello que la síntesis endógena a nivel de la piel es de gran importancia para obtener los niveles adecuados de esta vitamina (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Van den Berg, 1997).

Las ingestas recomendadas de vitamina D en personas mayores son de 5 µg/día según el NRC (1989) y el Departamento de Nutrición (1994).

Las personas de edad avanzada tienen mayor riesgo de padecer una deficiencia en vitamina D ya que su concentración plasmática disminuye durante el envejecimiento (Munro y col., 1987; Devin y col., 1988). Además, los síndromes de malabsorción, la disminución de la ingesta (Rojas, 1985), la insuficiente síntesis renal de la forma vitamínica activa y la escasa exposición al sol e inadecuada síntesis a nivel de la piel (Whitney y Cataldo, 1983; Horst y col., 1990), son las causas de la deficiencia de vitamina D en personas mayores. Por ello para personas de edad con baja exposición al sol la ingesta diaria recomendada para la población española es de 10 µg/día (Departamento de Nutrición, 1994).

Es importante resaltar que esta hipovitaminosis contribuye a agravar la problemática ósea de las personas mayores, con el consiguiente aumento del número de fracturas y osteoporosis en este colectivo (Lówik y col., 1990; Dawson-Hughes y col., 1995), por lo que algunos autores recomiendan el uso de suplementos (Nordin y col., 1985; Holund y col., 1997).

### Vitamina E

La vitamina E es el término genérico de un grupo de derivados liposolubles que agrupa a tocoferoles y tocotrienoles (Cohn, 1997). Esta vitamina proviene en la dieta sobre todo de grasas y aceites (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995), por lo que el contenido en vitamina E varía de forma importante dependiendo de la calidad y cantidad de la grasa consumida.

El Departamento de Nutrición (1994) recomienda una ingesta de 12 mg/día de vitamina E en mujeres mayores de 40 años. Algo menores (8 mg/día) son las recomendaciones del NRC (1989). Pero hay que tener en cuenta que los requerimientos de esta vitamina están aumentados en dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados. La relación vitamina E/ácido linoleico debe ser de 0,6 mg/g (NRC, 1989; Igarashi, 1993). Por otra parte, se ha observado que la concentración

en plasma de vitamina E no depende enteramente de la ingesta en la dieta, sino que varía en función de la concentración de lipoproteínas y colesterol (Davies y col., 1969; Cohn, 1997), de modo que al aumentar estos la concentración de vitamina E plasmática también aumenta.

La vitamina E posee propiedades antioxidantes, protegiendo a las membranas celulares del efecto nocivo de los radicales libres que juegan un papel importante en el desarrollo de la aterogénesis y otras enfermedades como el cáncer (Gey y col., 1987; Riemersma, 1991; Stampfer y col., 1993; Jha y col., 1995; Nyerenberg y col., 1997). En el apartado 1.5.2. de esta Revisión Bibliográfica se indicará el papel de los tocoferoles como antioxidantes y su importancia como agentes anti-ateroscleróticos (Rimm y col., 1993; Stampfer y Rimm, 1995; Miwa y col., 1996). Una ingesta diaria de 67 mg de  $\alpha$ -tocoferol proporciona una protección significativa contra enfermedades cardiovasculares (Stampfer y Rimm, 1995), aunque Kushi y col. (1996) en un estudio en mujeres posmenopáusicas encontró que el aumento en la ingesta de vitamina E a partir de los alimentos, pero no a partir de suplementos, reducía el riesgo de enfermedad coronaria.

Otra acción de la vitamina E es su importante papel en el sistema inmunitario (Meydani y col., 1992; Roebathan y Chandra, 1994; Meydani y col., 1995; Jeng y col., 1996).

El proceso de envejecimiento no disminuye los niveles de vitamina E, por lo que los estados carenciales en personas mayores se deben generalmente a ingestas inadecuadas o a alteraciones patológicas (Campbell y col., 1989).

#### 1.3.4.4.2. Vitaminas hidrosolubles

##### Vitamina C

El ácido ascórbico o vitamina C se encuentra principalmente en los cítricos y en menor cantidad en otras frutas, hortalizas y verduras (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995; Levine, 1996; Drewnowsky y col., 1997). Conviene ingerirla a partir de alimentos crudos y frescos, ya que se altera fácilmente por oxidación y al ser termolábil se destruye, incluso hasta un 80%, en los procesos culinarios (De Ritter, 1986; Poleman y Peckenpaugh, 1991).

La ingesta recomendada de vitamina C es de 60 mg/día (Departamento de Nutrición, 1994; NRC, 1989). Dado que en España se consumen gran cantidad de alimentos crudos ricos en vitamina C las necesidades de esta vitamina están generalmente cubiertas (Varela y Moreiras-Varela, 1986). Sin embargo, las personas de edad avanzada son un colectivo donde el déficit de



vitamina C es más frecuente debido quizás a una menor absorción y retención de este nutriente (Jacob y col., 1988).

Como antioxidante actúa en el organismo previniendo la acción de los radicales libres y participa en la regeneración o reducción de la vitamina E después de oxidarse. Su déficit se relaciona con enfermedades cardiovasculares y cáncer (Gey y col., 1993; Riemersma y col., 1991). Las bajas ingestas de vitamina C se han relacionado en personas mayores con prevalencia de estas enfermedades y alteraciones de la función cognoscitiva (Goodwin y col., 1983; Losonczy y col., 1996). Al contrario, las elevadas ingestas de este nutriente se asocian con mejora del sistema inmunitario (Chan, 1993; Jeng y col., 1996), protección frente a las cataratas (Carter, 1994; Taylor y col., 1996), y normalización de la hipertensión arterial (McCarron y col., 1991). Otras acciones importantes son la reducción del riesgo de padecer cáncer (Block, 1991; Correa, 1992) y enfermedades cardiovasculares, sobre todo si se toma asociada a altas ingestas de vitamina E (Thomas y col., 1995, Losonczy y col., 1996). Es por ello que algunos autores han recomendado una suplementación de vitamina C (Olson y Hodges, 1987; Garry y col., 1992). Sin embargo los estudios indican que la ingesta por encima de 160 mg/día se asocia a débiles incrementos plasmáticos de esta vitamina (Bidlack y col., 1986) y dosis masivas interaccionan de forma competitiva con minerales y otras vitaminas (Herrero, 1985; Jacob y col., 1988).

Por otra parte, se ha encontrado una relación positiva entre niveles de vitamina C y HDL-colesterol y una relación negativa entre los niveles de esta vitamina y la relación colesterol total/HDL-colesterol (Jaques y col., 1987; Hallfrisch y col., 1994).

### Tiamina

La vitamina B<sub>1</sub> o tiamina se encuentra fundamentalmente en la carne de cerdo, vísceras y cereales integrales (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Finglas, 1993; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

Las ingestas recomendadas de esta vitamina según el Departamento de Nutrición (1994) son de 0,9 mg/día para mujeres de 40 a 49 años, de 0,8 mg/día para mujeres de 50 a 69 años y de 0,7 mg/día para mujeres mayores de 70 años. Algo mayores son las recomendaciones diarias del NRC (1989) que se sitúan en 1,1 mg para mujeres entre 40 y 50 años y en 1 mg para mujeres mayores de esa edad.

Las deficiencias de esta vitamina son frecuentes en las personas de edad avanzada (Bidlack, 1990) debido a que en este colectivo se ven reducidas tanto la ingesta como la absorción (Iber y col., 1982; Sutter y Russell, 1987), observándose bajos niveles de tiamina en el

citado grupo de población incluso tomando una suplementación oral (Baker y col., 1980). Este déficit está asociado a cambios en la conducta y demencia en personas mayores (Young, 1982), y a anorexia (Chandra y col., 1991).

### Riboflavina

La vitamina B<sub>2</sub> o riboflavina se encuentra fundamentalmente en vísceras, productos lácteos y algunos tipos de pescado (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

Las recomendaciones diarias según el Departamento de Nutrición (1994), son de 1,3 mg para mujeres entre 40 y 49 años, de 1,2 mg entre 50 y 59 años, de 1,1 mg entre 60 y 69 años y de 1 mg para mujeres mayores de 70 años. El NRC (1989) recomienda una ingesta de 1,3 mg/día en mujeres entre 40 y 50 años y de 1,2 mg/día en mujeres mayores de esa edad.

Las deficiencias de riboflavina son frecuentes en las personas mayores (Ortega y col., 1992; Moreiras y col., 1993) debido sobre todo a ingestas deficitarias (Bidlack, 1990) y a que durante el proceso de envejecimiento disminuye su absorción (Bates, 1997), aunque en la práctica se ha visto que personas mayores, con niveles adecuados de riboflavina, tienen las mismas ingestas que personas jóvenes (Garry y col., 1982; Alexander y col., 1984). Esta vitamina previene contra la aparición de cataratas (Taylor, 1989), por lo que algunos autores recomiendan el uso de suplementos en la población de edad avanzada (Sack y Cohen, 1987). Además la riboflavina tiene acciones vasodilatadoras, fibrinolíticas y modifica favorablemente los niveles de lípidos y lipoproteínas séricas (Kannel, 1986), siendo por ello importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares.

Numerosos estudios relacionan niveles adecuados de vitamina B<sub>2</sub> con una mejora en la función cognoscitiva en personas de edad avanzada (Hodkinson, 1988).

### Vitamina B<sub>6</sub>

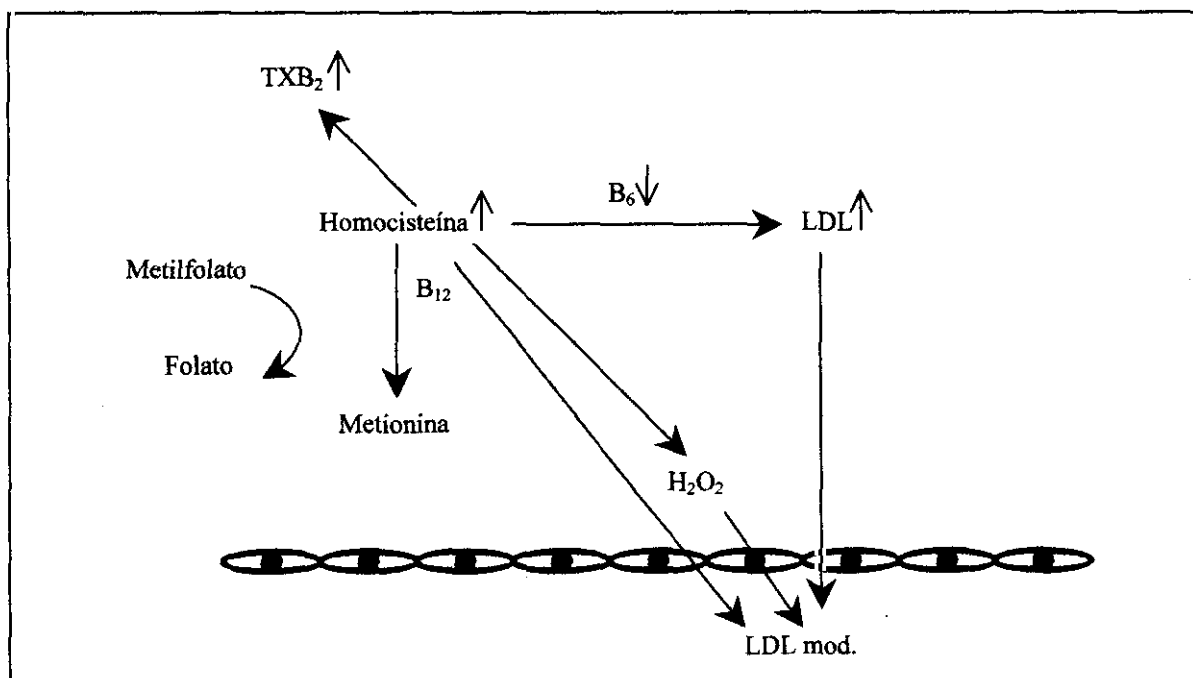
Las principales fuentes de piridoxina o vitamina B<sub>6</sub> son el hígado, yema de huevo, salmón, frutos secos, leguminosas, cereales integrales y hortalizas (Manore y col., 1990; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El Departamento de Nutrición (1994) y el NRC (1989) recomiendan una ingesta diaria de 1,6 mg en mujeres mayores de 40 años. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los requerimientos de piridoxina aumentan en dietas ricas en proteínas (Poleman y Peckenpaugh,

1991), por lo que es interesante conocer la relación vitamina B<sub>6</sub>/proteína ingerida. Este cociente no debe exceder de 0,016 mg/g (NRC, 1989).

La deficiencia de esta vitamina es rara en la población general, ya que la flora intestinal participa en la producción endógena de piridoxina y por tanto en el mantenimiento de las reservas corporales (Castloo y Cárdenas, 1986). Sin embargo, las personas de edad avanzada tienen mayores requerimientos de piridoxina, encontrándose con bastante frecuencia deficiencias, lo que ha llevado a recomendar un aumento en su ingesta (Munro y col., 1987; Ferroli y Trumbo, 1994). Este hecho se ve agravado por una disminución de las funciones digestivas y de absorción en este grupo de población, ya Kirsch y Bidlack (1987), observaron en su estudio, que por este motivo aproximadamente un 10% de las personas mayores no respondieron a la suplementación con vitamina B<sub>6</sub>.

Un déficit en vitamina B<sub>6</sub> se relaciona con aumento del riesgo cardiovascular, alteraciones inmunológicas, desórdenes mentales y aparición de depresión (Lówik y col., 1990; Meydani y col., 1992; Riggs y col., 1996; Lesourd, 1997). También son importantes los estudios que relacionan la homocisteinemia y bajos niveles de vitamina B<sub>6</sub> con elevación de los niveles de LDL y de la producción de TXA<sub>2</sub> (Ubbink y col., 1993; Pietrzik, 1995; Nygard y col., 1995) (Figura 20).



**Figura 20.** Homocisteinemia y enfermedad cardiovascular. La homocisteinemia aumenta la incidencia de enfermedad cardiovascular por varios mecanismos, entre los que está implicado un aumento de la formación de TXB<sub>2</sub> por las plaquetas, y un aumento de la LDL y de su modificación, en el que está también implicado un déficit de vitamina B<sub>6</sub>. Adaptado de Pietrzik (1995).

### Niacina

Las leguminosas, frutos secos, el hígado, la carne de pollo y el pescado son fuentes ricas en niacina (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). También lo son los alimentos ricos en su precursor, el triptófano, como la leche (Poleman y Peckenpaugh, 1991).

Las recomendaciones en la ingesta de esta vitamina según el Departamento de Nutrición (1994) son de 14 mg/día en mujeres entre 40 y 59 años, de 12 mg/día entre 60 y 69 años y de 11 mg diarios en mujeres mayores de 70 años. El NRC (1989) establece unas ingestas diarias recomendadas de 15 mg en mujeres de 40 a 50 años y de 13 mg en mujeres mayores de esa edad.

La niacina previene el riesgo de enfermedad cardiovascular por influir favorablemente sobre los lípidos y lipoproteínas séricas (Kannel, 1986), y por otra parte mejora la memoria (Loriaux y col., 1985). Por el contrario un déficit en esta vitamina provoca alteraciones nerviosas, anorexia, confusión, pérdida de memoria y en casos extremos incluso demencia (Hodkinson, 1988).

### Ácido fólico

Las principales fuentes de ácido fólico son los vegetales de hoja verde como las espinacas, las carnes, leguminosas, frutos secos y cereales integrales (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

Las recomendaciones del Departamento de Nutrición (1994) para mujeres son de 200 µg/día. Algo menores (180 µg/día) son las recomendaciones del NRC (1989).

Las personas de edad avanzada tienen más riesgo de sufrir deficiencias de esta vitamina (Ortega y col., 1992; 1996; Moreiras y col., 1993), debido a ingestas insuficientes (Bidlack, 1990), alteraciones gástricas (Lamy y Kitter, 1985) o consumo de medicamentos (Bailey y Cerda, 1988). Su déficit se relaciona con aparición de anemias megaloblásticas (Rosenberg y col., 1982; Corral, 1990), alteraciones inmunológicas y desordenes mentales como demencia (Brockner y Lods, 1989; Riggs y col., 1996; Ortega y col., 1996). No existen estudios experimentales que demuestren directamente una relación entre la ingesta de ácido fólico y la incidencia de enfermedad cardiovascular, pero muchos estudios relacionan altos niveles de homocisteína en plasma con este tipo de enfermedades y está demostrado que el ácido fólico reduce los niveles de este aminoácido, por ser el folato el sustrato en la remetilación de la

homocisteína por la metionina sintetasa (Bottiglieri, 1996). La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo cardiovascular independiente, y hay estudios que demuestran que las mujeres posmenopáusicas presentan mayores niveles de homocisteína que las mujeres premenopáusicas (Wouters y col., 1995; Jacobsen, 1996). De esta forma, indirectamente los folatos están implicados en la patología cardiovascular (Ubbink y col., 1993; Pancharuniti y col., 1994; Pietrzik, 1995; Guttormsen y col., 1996) (Figura 20).

### Vitamina B<sub>12</sub>

Las principales fuentes alimentarias de vitamina B<sub>12</sub> son los alimentos de origen animal: huevos, leche y derivados y carnes, sobre todo el hígado. (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995). Pero existe también una fuente endógena, la síntesis por las bacterias intestinales (Alcalá, 1983).

Las recomendaciones diarias de esta vitamina en la población adulta son de 2 µg (NRC, 1989; Departamento de Nutrición, 1994).

Su déficit es raro y generalmente sólo se observa en las personas que se abstienen totalmente del consumo de alimentos animales, incluyendo la leche y los huevos (Herbert, 1985; 1994). Otras causas pueden ser alteraciones en la síntesis del factor intrínseco (McLennan y col., 1984) o disminución de ácido a nivel de la mucosa gástrica (Durá y col., 1990) y también un déficit en calcio y magnesio (Alcalá, 1986).

La falta de vitamina B<sub>12</sub> lleva a la aparición de anemias macrocíticas (Corral, 1990) y alteraciones de la conducta y función cognoscitiva en personas mayores (Hodkinson, 1988; Allen y Casterline, 1994; Riggs y col., 1996). Su función como cofactor acoplado con el ácido fólico explicaría el papel de esta vitamina en la producción de homocisteína y por tanto su relación con el desarrollo de la aterosclerosis (Ubbink y col., 1993; Pancharuniti y col., 1994; Pietrzik, 1995; Bottiglieri, 1996; Guttormsen y col., 1996).

#### **1.3.4.5. Necesidades de minerales**

Las deficiencias minerales más frecuentes en las personas de edad avanzada son las producidas por calcio, hierro y zinc (Nordin y col., 1987; Vera y col., 1987). También son importantes por el papel que desarrollan en el envejecimiento y aparición de enfermedades degenerativas las bajas ingestas de magnesio, cobre y selenio (Mertz, 1986; Munro y col., 1987).

### Calcio

La leche y derivados son una importante fuente de calcio. También lo son los pescados de mar y algunos vegetales verdes (San Miguel y col., 1994; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995; Mortensen y Charles, 1996) pero hay que tener en cuenta que el ácido fítico procedente de diversos cereales integrales, al igual que el oxalato y los ácidos grasos de la dieta, pueden formar compuestos insolubles con casi todos los minerales, pero especialmente con el calcio, y disminuir su biodisponibilidad (Munro y col., 1987; Woo y Cannon, 1993). Existen además determinados factores dietéticos que aumentan la pérdida urinaria de calcio, como son las altas ingestas de proteínas, sodio, cafeína o alcohol (Schaafsma, 1997).

Según el Departamento de Nutrición (1994) y el NRC (1989) en mujeres mayores de 40 años se recomienda una ingesta diaria de 800 mg de calcio.

Existe controversia con respecto a las necesidades de calcio en las personas mayores, ya que hay estudios que sugieren que dichas necesidades son mayores y que una ingesta diaria de 1.000 a 1.500 mg/día disminuiría el ritmo de descalcificación ósea (Barger y col. 1989; Woo y Cannon, 1993; Murray y O'Brien, 1995). Esto es debido a que con la edad disminuye la absorción intestinal de calcio y de forma más acusada en la mujer, pero podemos forzar la absorción con un aumento de la ingesta de este mineral (Heaney, 1992; Reid y col., 1992; Peck, 1993; Weaver, 1995). Otras causas de pérdida de calcio en las personas mayores son la ingesta inadecuada (Sauberlich, 1986; Nelson y col., 1991), la disminución de calcitrol sanguíneo debido a cambios hormonales (Devogelaer y col., 1987) o la inactividad física (Knapp, 1990). Además, hay que tener en cuenta que tras la menopausia cambia el metabolismo del calcio, ya que la liberación de calcio del hueso pasa de 280 a 470 mg/día y la aposición del mismo de 230 a 380 mg/día, lo que indica que la mujer después de la menopausia tenga mayor necesidad de calcio (Ettinger y col. 1987; Heaney, 1989; Weaver, 1995). La osteoporosis es la principal consecuencia de una ingesta inadecuada y una menor absorción de calcio en las personas mayores (Nordin y col., 1987; Bronner, 1994; Holund y col., 1997).

También es importante el papel del calcio en la regulación de la presión sanguínea. Este efecto se piensa que es debido a un efecto diurético, un efecto de estabilización de membrana, efectos sobre el tono simpático, y la elevación de los niveles circulantes de un potente vasodilatador (Kotchen y Kotchen, 1994; Osborne y col., 1996).

### Hierro

Las principales fuentes de hierro son la carne, pescado y huevos. También hay una cantidad importante en cereales enteros y hortalizas (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

La ingesta diaria recomendada de hierro se sitúa según el Departamento de Nutrición (1994) en 18 mg para mujeres entre 40 y 49 años y en 10 mg para mujeres mayores de 50 años. El NRC (1989) recomienda la ingesta de 15 mg/día en mujeres de 40 a 50 años y de 10 mg/día en mujeres mayores de esa edad.

El balance de hierro se controla mediante la regulación de su absorción intestinal, ya que las pérdidas de este nutriente son muy pequeñas. Es por ello que el hierro ingerido como complejo *hemo*, de mejor absorción, es de mayor calidad que el que se encuentra como sal ferrosa (en alimentos vegetales) (Herrero 1989; Fairbanks, 1994). Por otra parte, el ácido ascórbico tiene la capacidad de convertir el hierro férrico en ferroso, favoreciendo la absorción de este mineral (McArdle y col., 1991).

En las personas mayores los requerimientos de hierro no están aumentados, pero debido sobre todo a la menor absorción de este mineral o a diversas enfermedades es frecuente la aparición de anemia ferropénica (Rojas, 1985).

Existen estudios que relacionan altos niveles de hierro en el organismo con mayor incidencia de enfermedad coronaria, lo que se explica por la capacidad del hierro de catalizar las reacciones de peroxidación lipídica y originar radicales libres (McCord, 1996; Sempos y col., 1996).

### Iodo

Aunque este mineral se encuentra en muy diversos alimentos son los de origen marino su fuente principal. Además, los huevos, carne, leche, cereales y verduras contienen importantes cantidades de iodo (Escobar, 1987; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El Departamento de Nutrición (1994) recomienda la ingesta diaria de 110 mg de iodo en mujeres de 40 a 69 años y de 95 mg para mujeres mayores de esa edad. Algo mayores son las recomendaciones del NRC (1989) que se sitúan en 150 mg/día.

El déficit de este mineral ocasiona bocio, pero en los países industrializados es frecuente el exceso de iodo en la dieta debido al uso abusivo de suplementos vitamínicos, de sales iodadas y al enriquecimiento en iodo de algunos alimentos (Pennington, 1990).

### Magnesio

La principal fuente de este mineral son los cereales integrales y algunos frutos secos. Con un contenido medio se encuentran las verduras, carnes y pescados, y por último la lechuga, diversas hortalizas, los huevos y la leche tienen un contenido bajo (Deulofeu y col., 1994; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

Las recomendaciones del Departamento de Nutrición (1994) son de 330 mg/día para mujeres entre 40 y 49 años y de 300 mg/día para mujeres mayores de esa edad. Menores son las recomendaciones del NRC (1989) que establece una ingesta diaria de 280 mg.

En general la dieta de los países desarrollados no aporta la cantidad suficiente de magnesio, por lo que existe un alto riesgo de sufrir una deficiencia. Estas deficiencias son más frecuentes en las personas de edad avanzada (Gullestad y col., 1994; Ortega y col., 1992) y son debidas a una disminución en la ingesta, una menor absorción en las personas mayores o a distintas enfermedades renales o endocrinas (Gullestad y col., 1994; Núñez y Hernández, 1995).

Existen numerosos estudios que relacionan una deficiencia en magnesio con la aparición de enfermedades neuromusculares, así como de lesiones arteriales y cardíacas sobre todo en las arterias coronarias e intramiocárdicas (Fuentes y Queralto, 1992). La deficiencia de magnesio aumenta el riesgo de trombosis intravascular, aumenta el tono arterial y los espasmos, posiblemente por reducir la captación de calcio por las células y disminuir así el calcio citosólico (Kotchen y Kotchen, 1994; Stamler y col., 1997). Como consecuencia de ello hay un aumento de la resistencia vascular periférica y se favorece la formación de depósitos ateroscleróticos (Freedman y col., 1990; Núñez y Hernández, 1995). La alteración depende del grado de deficiencia y está influida por los niveles de potasio y calcio intracelular; de hecho un desequilibrio entre el calcio, estimulante de la excitabilidad cardíaca, y el magnesio, antiaterosclerótico y antiespasmódico, podría ser un factor determinante en la enfermedad cardiovascular (Shills, 1988). Además, se ha visto que suplementos de magnesio reducen la presión sanguínea en mujeres con hipertensión media o moderada (Witteman y col., 1994).

Por otra parte, estudios *in vitro* realizados en plaquetas han demostrado que el magnesio inhibe de manera dosis-dependiente tanto la agregación plaquetaria inducida por colágeno, ADP y trombina, como la síntesis de TXA<sub>2</sub> y liberación de  $\beta$ -tromboglobulina (Hardy y col., 1995; Ravn y col., 1996).

### Zinc

Las proteínas de origen animal: carne, pescado, huevos, leche y derivados son fuentes importantes de zinc (Morgan y col., 1993). También son ricos en este mineral los cereales,



legumbres y verduras (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995), pero la presencia de fitatos y fibra en estos alimentos hace que la biodisponibilidad del zinc sea menor (Hernández y Peris, 1992; Keenan y Morris, 1993).

En adultos, el Departamento de Nutrición (1994) recomienda una ingesta diaria de 15 mg de zinc. El NRC (1989) recomienda una ingesta algo menor (12 mg/día).

Aunque la deficiencia de zinc parece afectar a la población en general, son al parecer las personas mayores más propensas a sufrirla (Moreiras y col., 1986; Ortega y col., 1992; Keenan y Morris, 1993), algo bastante importante si tenemos en cuenta el papel que juega este mineral en el proceso de envejecimiento, que según algunos autores estabiliza las membranas y reduce las lesiones celulares como hace la vitamina E (Prasad, 1991; Jackson y Lowe, 1992; Keenan y Morris, 1993). Algunos estudios demuestran que el zinc previene la pérdida de hueso en la osteoporosis (Strause y col., 1994; King, 1996).

Las manifestaciones clínicas de una deficiencia de zinc son una disminución en la respuesta inmunitaria (Keen, 1990; Keenan y Morris, 1993; Lesourd, 1997), un retraso en la cicatrización de heridas (Sandstead y col., 1982), un deterioro de los sentidos del gusto y olfato que puede contribuir a una disminución en la ingesta de alimentos (Mobarhan y Trumbore, 1991; Keenan y Morris, 1993), y un aumento de los niveles de colesterol con el consiguiente aumento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Shankar y col., 1986). Además, un déficit de zinc produce malabsorción de folatos debido a una actividad insuficiente de la enzima folato conjugasa (*Food and Drug Administration*, 1993).

### Sodio

Las principales fuentes de sodio son la sal, lácteos, carne y determinadas verduras (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

El sodio está directamente relacionado con la hipertensión arterial, algo frecuente en ancianos (Elliot, 1991; *National High Blood Pressure Education Program Working Group*, 1993; Stamler y col., 1997; Tobian, 1997). Ésta se produce por una disminución en la excreción de NaCl con retención de fluidos, alteraciones en los baroreceptores, aumento de la actividad del sistema simpaticomimético, y alteración en el transporte de Na<sup>+</sup> en las células del músculo liso de la pared vascular en ingestas altas de cloruro sódico, ClNa, (Kotchen y Kotchen, 1994). Por tanto se recomienda ingerir de 2 a 4 g de sodio al día (Poleman y Peckenpaugh, 1991). Pero en

personas hipertensas la European Atherosclerosis Society (1992) ha establecido ingestas más restrictivas: de 1,4 a 2,2 g/día.

### Potasio

Las frutas, sobre todo cítricos y plátanos, tomates, patatas, carnes y leche son fuentes importantes de potasio (Poleman y Peckenpaugh, 1991; Ministerio de Sanidad y Consumo, 1995).

Algunos autores aconsejan una ingesta diaria de potasio de 1,5 a 6 g/día (Poleman y Peckenpaugh, 1991), ya que aunque no existen recomendaciones específicas, una disminución en el consumo de potasio está relacionada con hipertensión y enfermedad cardiovascular (Gros y col., 1971; Luft y Weinberger, 1987; Tobian, 1997), y por el contrario una ingesta alta en este mineral, se relaciona con disminución de la presión sanguínea en sujetos hipertensos o con altas ingestas de sal, debido quizás a su efecto natriurético (Kotchen y Kotchen, 1994; Tobian, 1997). La ingesta adecuada se ha asociado a una reducción en el riesgo de padecer apoplejía, enfermedad frecuente en las personas mayores (NRC, 1989).

## **1.4. GRASAS CULINARIAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO**

La diferencia entre los términos "aceite" o "grasa" se relacionan con su punto de fusión a temperatura ambiente, siendo el primero un producto graso líquido y el segundo sólido. Además, el término "temperatura ambiente" es muy ambiguo, ya que una misma sustancia puede ser "aceite" en un país tropical y "grasa" en otro con temperatura ambiental media más fría. Por esta razón la utilización de estos dos términos será indistinta a lo largo de esta exposición.

La composición química y las constantes físicas y físico-químicas de las grasas culinarias son variables. Las grasas están formadas fundamentalmente por triglicéridos, es decir, por una molécula de glicerol esterificada con tres ácidos grasos. También encontramos, aunque en menor proporción, glicéridos parciales como diglicéridos y monoglicéridos, ácidos grasos libres y una serie de componentes minoritarios que forman la denominada fracción insaponificable y que incluye tocoferoles, esteroides, colorantes, etc.

El punto de fusión de la grasa viene determinado por las características de sus ácidos grasos tales como su grado de saturación y su longitud de cadena, mientras que el grado de saturación por el número de dobles enlaces del ácido graso. A mayor número de ácidos grasos con dobles enlaces menor punto de fusión de la grasa y mayor facilidad de alteración de la misma

(Cuesta y Sánchez-Muniz, 1991). La longitud de cadena se corresponde con el número de átomos de carbono que componen la cadena del ácido graso (normalmente es un número par). A mayor número de ácidos grasos de cadena corta menor punto de fusión de la grasa.

Los aceites y grasas son parte importante en la alimentación, ya que desempeñan diversas funciones biológicas centrales en el cuerpo: las grasas actúan como almacén de energía fundamental, son componentes estructurales de las membranas y de las células, sirven de vehículo de transporte de sustancias liposolubles y algunas como vitaminas y hormonas tienen una intensa actividad biológica (Grande, 1988; *British Nutrition Foundation*, 1992).

Las grasas de "almacenamiento" son depósitos de energía altamente concentrada en forma de triglicéridos, mientras que las grasas "estructurales", principalmente fosfolípidos y glucolípidos, forman parte de tejidos blandos y membranas celulares.

Los ácidos grasos suministran hasta el 40% de las necesidades totales de energía en una dieta normal. En los vegetales predominan los ácidos grasos no saturados como oleico, linoleico y linolénico. Los saturados más frecuentes son palmítico y esteárico, y suelen encontrarse en mayor concentración en las grasas de origen animal (Sánchez-Muniz, 1987; Sánchez-Muniz y Bastida, 1997), aunque hay aceites vegetales como el de palma que contienen una elevada proporción de ácido palmítico.

El ácido linoleico constituye el 10-20% de los ácidos grasos totales de los triglicéridos y fosfolípidos de los mamíferos y es el precursor necesario para la biosíntesis del ácido araquidónico. Este ácido graso relativamente importante en los tejidos de origen animal se encuentra en las plantas en cantidades del orden de trazas, y a partir del cual tiene lugar la biosíntesis de las prostaglandinas.

Los mamíferos carecemos de enzimas para introducir dobles enlaces (desaturasas) entre los átomos más allá del carbono 9 en la cadena del ácido graso, por lo tanto, no podemos sintetizar ácido linoleico ni ácido linolénico y debemos aportarlos con la dieta, por lo que se denominan ácidos grasos esenciales (Sánchez-Muniz, 1987; Grande, 1988).

Los ácidos grasos insaturados de los animales superiores, incluido el hombre, proceden del palmítico, oleico, linoleico y del linolénico por elongación y desaturación, aunque también pueden ser incorporados directamente a partir de los ácidos grasos ingeridos en nuestra dieta (Sánchez-Muniz, 1987; Sánchez-Muniz y Bastida, 1997).

Las plantas superiores no suelen contener colesterol sino otro grupo de esteroides llamados genéricamente fitosteroides, entre los que se encuentran el estigmasterol y el  $\beta$ -sitosterol.

La composición en ácidos grasos condiciona diversos aspectos de interés nutricional de

los aceites. Así, por ejemplo, cuando se utiliza para frituras es preferible un aceite con la menor insaturación, para lograr una mayor resistencia a la termooxidación y ser más estable. Sin embargo, bajo el punto de vista de la enfermedad cardiovascular la elección de grasas culinarias de elevado contenido de ácidos grasos saturados estaría en principio contraindicado.

En el diseño experimental de esta Tesis Doctoral, la composición de ácidos grasos de los aceites culinarios utilizados adquiere especial relevancia pues éstos constituyen el 62% de la grasa total de la dieta, siendo además este parámetro el único que se modifica al pasar de un periodo dietario a otro. Así durante el período basal, la población consumió una mezcla a partes iguales de aceite de oliva refinado y aceite de girasol convencional. Posteriormente, los aceites estudiados fueron: aceite de oliva virgen "extra", y aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico.

Por ello definiremos a continuación algunos aspectos de interés de estos aceites.

#### 1.4.1. Aceite de girasol

El aceite de girasol comúnmente conocido se extrae de las semillas de *Helianthus annuus*, de la familia Asteráceas. Se obtiene por presión de las semillas descascarilladas y secas o por extracción con disolventes.

Según El-Shattory y Taha (1980) la composición en ácidos grasos del aceite de girasol varía según proceda de la variedad descascarillada o de la variedad blanca. Así mismo, la composición en ácidos grasos difiere ligeramente cuando estas semillas son calentadas con calor seco.

La composición porcentual en ácidos grasos mayoritarios del aceite de girasol descrita por diferentes autores se resume en el cuadro 13.

Acido graso	Valor medio	Máximo	Mínimo
Palmitico (C16:0)	6,5%	7,1%	5,6%
Palmitoleico (C16:1)	0,05%	0,1%	Trazas
Estearico (C18:0)	4,15%	5,2%	2,2
Oleico (C18:1)	23,55%	31,1%	18,2%
Linoleico (18:2)	63,38%	67,3%	55,6%

**Cuadro 13.** Composición en % de los ácidos grasos mayoritarios del aceite de girasol. Tomado de: Harwood y Geyer, 1975; Guillaumin y col., 1978; Figueroa, 1984; Garrido-Polonio, 1991.

El-Shattory y Taha (1980) señalan que el aceite de girasol es rico en ácidos grasos poliinsaturados y debe contener entre 65-75% de ácido linoleico, con sólo trazas de linolénico (0,1-0,3%). Según Paccalin y Julliet (1982) el aceite de girasol, prácticamente desprovisto de ácido linolénico, es el más consumido.

Es uno de los aceites más importantes en cuanto a producción y consumo en el mundo. Aunque es originario de Estados Unidos su utilización ha sido preferentemente europea. Rojas en 1995 indica que dicho aceite es el más consumido mundialmente después del aceite de palma y el de soja, con una producción mundial de  $8.0 \times 10^6$  Tm en 1990. Las principales áreas de producción son URSS, EE.UU., Argentina, China y Europa Oriental, según nos indica el mismo autor.

#### 1.4.2. Aceite de oliva

El aceite de oliva se obtiene del fruto del olivo, es decir, la aceituna, que es una drupa ovalada, estando el 96-98% del aceite en su pericarpio o pulpa y el 2-4% del mismo en su endocarpio o hueso (Frezotti y Manni, 1956; Kiritsakis, 1992; Boskou, 1998). La composición de la aceituna puede cambiar según la variedad cultivada, las circunstancias externas y el grado de madurez. Las variedades de aceituna más empleadas en la obtención de aceite son: *Arauco*, *Corfolia*, *Koroneki*, *Dafnolia*, *Fratoio*, *Lechín*, *Picual*, *Razzola*, *Rougette*, *Smertolia*, *Taggiasca*, *Tsounati*, *Zorzalena*, *Megaritiki* y *Hohiblanco*. Los principales constituyentes de la aceituna son el agua, el aceite, los azúcares, las proteínas, los antocianos y la oleuropeína (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1993; Kiritsakis, 1992).

El aceite de oliva está compuesto principalmente por triglicéridos, ácidos grasos libres en pequeñas cantidades, glicerol, fosfátidos, pigmentos, hidratos de carbono, proteínas, compuestos aromáticos, esteroides y sustancias resinosas sin identificar. Estos componentes pueden dividirse en dos categorías: la fracción saponificable (triglicéridos, ácidos grasos libres, fosfátidos, etc.) y la fracción insaponificable (hidratos de carbono, alcoholes grasos, etc.)

La mayoría de los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva son insaturados, destacando por su mayor proporción el ácido oleico (70-80% en peso).

En el cuadro 14 se presenta la distribución porcentual de los ácidos grasos en el aceite de oliva.

Ácido	Contenido (%)
Oleico	56,0-83,0
Palmítico	7,5-20,0
Linoleico	3,5-21,0
Esteárico	0,5-5,0
Palmitoleico	0,3-3,5
Linolénico	0,0-1,5
Mirístico	0,0-0,1
Araquidónico	0,8(máx.)
Behénico	0,2(máx.)
Lignocérico	1,0(máx.)
Heptadecanoico	0,5(máx.)
Heptadecenoico	0,6(máx.)

**Cuadro 14.** Contenido en ácidos grasos del aceite de oliva. Tomado de International Olive Oil Council (1992).

El Comité del Código Alimentario en Grasas y Aceites (*Codex Alimentarius Committee on Fats and Oils*, 1987) fijó los límites para los tres principales ácidos grasos del aceite de oliva:

- Ácido oleico: 50-83%
- Ácido palmítico: 7-20%
- Ácido linoleico: 3-21%

El ácido oleico, principal ácido graso monoinsaturado de la naturaleza, supone el 80-90% de la composición de este aceite, variando el porcentaje en función al tipo y origen de la aceituna (Kiritsakis, 1992).

Mg/kg de aceite	Oliva virgen
ESCUALENO	3000 - 5000
ESTEROLES TOTALES	800 - 2400
%Campesterol	2,0 - 3,5
%Estigmasterol	0,5 - 2,0
%β-sitosterol aparente	95,0 - 97,0
POLIFENOLES	97 - 400
TOCOFEROLES	70 - 300
TOCOTRIENOLES	<1,0
β-CAROTENOS	0,5 - 10

**Cuadro 15.** Principales componentes minoritarios del aceite de oliva virgen. Adaptado del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (1983) y Kiritsakis (1992).

Kiritsakis y col., (1989) detectaron trazas de ácido elaidico en aceite de oliva por medio de espectrofotometría de absorción de infrarrojos. También se han encontrado trazas de ácidos láurico, mirístico, araquídico y eicosanoico en aceite de oliva de la India (Raina y col., 1986).

Basados en la composición en ácidos grasos del aceite Iverson y Firestone en 1965 clasificaron a los aceites de oliva en dos categorías:

1ª: Con bajo contenido en ácido linoleico y palmítico, y alto contenido en ácido oleico.

2ª : Relativamente rica en ácido linoleico y palmítico, pero con poco ácido oleico.

Viola en 1983 consideró que la relación entre la vitamina E y los ácidos grasos poliinsaturados en el aceite de oliva es más favorable para la salud que la que existe en otros aceites.

En el aceite de oliva hay otros componentes minoritarios que podrían tener un importante papel antiaterogénico. Así, según Frankel y col. (1993) el contenido en sustancias antioxidantes del aceite de oliva virgen es varias veces superior al del vino tinto, y se ha demostrado que una dilución al 1/1.000 de vino tinto logra prevenir la oxidación *in vitro* de las LDL mejor que el  $\alpha$ -tocoferol a concentraciones habituales. Así, por ejemplo, los fenoles aumentan de una forma considerable la estabilidad del aceite de oliva frente a la oxidación (Kiritsakis, 1992). Sería muy interesante establecer qué aspectos antiaterogénicos se deben a los ácidos grasos monoinsaturados, cuáles a otros componentes minoritarios del aceite de oliva y cuales a su acción sinérgica, ya que ello podría tener aplicaciones de interés sanitario en la elaboración o suplementación de los alimentos.

El aceite de oliva puede diferenciarse del resto de los aceites vegetales por los siguientes aspectos (Fedeli, 1988):

- Contiene un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico).
- Contiene un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados.
- Tiene una alta concentración de compuestos minoritarios, especialmente el aceite de oliva virgen.

Según el COI (1997) la producción media mundial de aceite de oliva durante las diez últimas campañas se sitúan en 1.885.000 toneladas. El 75% de esa cifra corresponde al aceite producido en la Unión Europea (España, Italia y Grecia principalmente). Esta cifra representa sólo el 4% de la producción mundial de aceites vegetales, y un 2,5% del total mundial de aceites y grasas comestibles (Boskou, 1998). Escribano en 1992 señala a España como el mayor productor

de aceite de oliva con un 32,65 de la producción mundial teniendo en cuenta los años 1987/88-1991/92.

Según se recoge en el artículo 26 del Convenio Internacional del Aceite de Oliva y de las Aceitunas de mesa (*International Olive Oil council*, 1986), el COI ha adoptado denominaciones y definiciones del aceite de oliva y todas sus variantes las cuales comentaremos a continuación.

I. Aceite de oliva virgen: es el aceite obtenido del fruto del olivo (*Olea europea sativa Hoff.Link*) únicamente por procedimientos mecánicos o por otros medios físicos en condiciones, especialmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, que no haya tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado, con exclusión de los aceites obtenidos por disolventes o por procedimientos de reesterificación y de toda mezcla con aceites de otra naturaleza.

Se clasifica y denomina de la siguiente forma:

a) *Aceite de oliva virgen* apto para el consumo en la forma en que se obtiene (para todos los aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo en la forma en que se obtienen puede utilizarse igualmente el calificativo “natural”):

- Aceite de oliva virgen extra: aceite de oliva virgen cuya puntuación organoléptica es igual o superior a 6,5 y, cuya acidez expresada en ácido oleico es como máximo de 1 g por 100 g.
- Aceite de oliva virgen fino: aceite de oliva virgen cuya puntuación organoléptica es igual o superior a 5,5 y cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 1,5 g por 100 g.
- Aceite de oliva virgen semifino (o aceite de oliva virgen corriente): aceite de oliva virgen cuya puntuación organoléptica es igual o superior a 3,5 y cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 3,3 g por 100 g.

b) *Aceite de oliva virgen* no apto para el consumo en la forma en que se obtiene:

- Aceite de oliva virgen lampante: aceite de oliva virgen cuya puntuación organoléptica es inferior a 3,5 y/o cuya acidez libre expresado en ácido oleico es superior a 3,3 gramos por 100 gramos.

II. El aceite de oliva refinado: es el aceite de oliva obtenido a partir de aceites de oliva vírgenes por métodos de refinado que no conduzcan a alteraciones de la estructura glicerídica



inicial, con una acidez máxima expresada en ácido oleico de 0,3 gramos por cada 100 gramos.

#### **1.4.3. Aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico**

Soldatov y Kharachenko en los años setenta (Soldatov, 1976) utilizando agentes químicos, como el sulfato de dimetilo, sobre cultivos de girasol, desarrollaron una nueva variedad de semillas de girasol genéticamente estables a condiciones climáticas variables, de las que se obtenía un aceite con alta proporción de ácido oleico, entre el 65-80%. Siguiendo esta línea de investigación se comercializó por primera vez en 1984 en Norteamérica y posteriormente en Europa un aceite de girasol con alto contenido en oleico. En estas variedades mutantes las diferencias en el contenido en ácido oleico se producen exclusivamente en el período de desarrollo de las semillas durante la fase de síntesis y acumulación de los lípidos de reserva.

Dado que los ácidos oleico y linoleico están en la misma cadena de biosíntesis, ya que el linoleico se forma por desaturación del oleico, existe una correlación negativa muy elevada entre el contenido de ambos ácidos grasos en el girasol. El desarrollo de un tipo o de otro de semillas, respecto a su contenido en ácidos grasos, está directamente relacionado con la actividad enzimática de la *oleato desaturasa*, ya que si esta actividad enzimática quedara bloqueada por alguna causa (como es en el caso de las variedades mutantes) aumentaría el contenido en ácido oleico al no producirse la desaturación correspondiente y la consiguiente síntesis de ácido linoleico. Aparentemente esa falta de actividad de la *oleato desaturasa* se produce en tejidos muy específicos de las semillas.

El contenido en ácido oleico en estos aceites de girasol alcanza incluso valores superiores al 80%, mientras que el del ácido linoleico llega a valores inferiores al 15%. (Purdy, 1986; Fernández S. Juan, 1993). Por tanto, según Yodice (1990) el aceite de girasol alto oleico se clasifica como un aceite monoinsaturado.

La proporción relativa de los ácidos oleico y linoleico en el girasol depende del genotipo y de la interacción genotipo-ambiente. En los genotipos comerciales normalmente utilizados los porcentajes de oleico y linoleico varían ampliamente con las condiciones ambientales, especialmente con la temperatura durante el desarrollo de la semilla, que es cuando se produce la síntesis del aceite.

- Si la síntesis tiene lugar alrededor de 30 °C, ambos ácidos grasos están presentes en cantidades aproximadas de 40-45% del total de ácidos grasos.
- Si las temperaturas son más altas, iguales o superiores a 35 °C, estos valores pueden

invertirse a favor del ácido oleico, que puede llegar en zonas muy calurosas a valores superiores al 50%.

- Si se da en condiciones de muy bajas temperaturas (12 °C es el límite más bajo para el crecimiento del girasol) la proporción de ácido linoleico aumenta a expensas del oleico hasta proporciones de 6 ó 7 partes de linoleico por una de oleico, lo que representa en porcentajes, 74% a 78% de ácido linoleico y 10% a 12% de oleico (Fernández Martínez y col., 1986).

Ácido graso	Contenido (%)
Oleico	84 – 90
Palmítico	3
Linoleico	1 – 8
Esteárico	2

**Cuadro 16.** Principales ácidos grasos en el aceite de girasol alto oleico. Tomado de Fernández-S. Juan (1993).

La composición de la fracción esterólica del insaponificable es similar en los dos tipos de aceites de girasol, el convencional y el de alto contenido en oleico, ya que el efecto mutagénico sólo produce variación de los lípidos en reserva de la semilla del girasol (triglicéridos), no afectando a otros componentes minoritarios de la fracción insaponificable (Itoh y col., 1973; Dutta y Appelqvist, 1996).

Mg/kg de aceite	Girasol alto oleico
ESCUALENO	200 – 500
ESTEROLES TOTALES	3000 – 4000
%Campesterol	5,1 – 9,2
%Estigmasterol	9,8 – 13,0
%β-sitosterol aparente	56,7 – 64,1
%δ-7-estigmasterol+δ-7-avenasterol	15,8 – 26,9
POLIFENOLES	20-40
TOCOFEROLES	268 – 900
TOCOTRIENOLES	< 1,0
β-CAROTENOS	< 1,0

**Cuadro 17.** Principales componentes minoritarios del aceite de girasol alto oleico. Adaptado de Dutta y Appelqvist (1996).

Según Fernández S. Juan (1993), el aceite de girasol rico en ácido oleico:

- Presenta una mayor viscosidad (similar al aceite de oliva).
- Es un aceite con una ligera menor densidad.
- Tiene un valor inferior de índice de saponificación debido probablemente al menor contenido en ácido palmítico.
- Presenta una mayor estabilidad al calor y termooxidación debido a su mayor riqueza en ácido oleico y un menor contenido en ácido linoleico. Este es un dato a tener en cuenta en determinados campos de la alimentación en los que se exige una mayor estabilidad (Purdy, 1985).
- Parece ser beneficioso desde el punto de vista nutricional respecto a sus efectos sobre los niveles de colesterol al mantener la fracción HDL en niveles óptimos, lo cual repercute positivamente en nuestra salud. En este aspecto existe una gran controversia sobre las ventajas de la utilización de uno u otro aceite en la alimentación, cuya clarificación es un objetivo del presente estudio.

Como vemos la alta concentración de oleico en las nuevas variedades de semillas de girasol (valor medio del 80%) otorga a éstos las propiedades características de los aceites monoinsaturados.

El nivel de ácido oleico obtenido en estas variedades mutantes, sin la presencia de isómeros trans, posibilita la utilización de estos aceites para fines dietéticos.

### **1.5. DIETA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR**

La dieta es un determinante ambiental fundamental en hiperlipemias, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Dicha relación quedó demostrada en diferentes estudios poblacionales, tales como el Seven Countries Study (Keys, 1975) y el Ni-Hon-San Study (Kato y col., 1973), y en estudios metabólicos (Grundy y col., 1990).

Ya en 1957 Ancel Keys demostró que la ingesta de grasa dietaria se correlacionaba con la concentración de colesterol sérico y con la mortalidad por enfermedad cardiovascular (Keys y col., 1957). Esta relación ha sido confirmada en numerosos estudios epidemiológicos realizados en los últimos 25 años (Epstein, 1989). Estudios mas recientes (Expert Panel 1988, Stamler y col., 1986; Chen y col., 1991) sostienen la relación directa entre los valores de colesterol sérico y el índice de muerte cardiovascular, y además sugieren que la incidencia de mortalidad por enfermedad cardiovascular podría ser prácticamente cero a concentraciones de colesterol plasmático total inferiores a 140 mg/dL, pero a partir de este

nivel la relación sería lineal.

También está plenamente establecido que diferentes lipoproteínas, tales como las LDL y las HDL, tienen distintas funciones biológicas, especialmente en relación al desarrollo de aterosclerosis (Brown y col., 1986; Eisenberg, 1984). El riesgo de enfermedad coronaria aumenta progresivamente con el incremento en las concentraciones de colesterol plasmático y LDL-colesterol (Keys, 1970; Kannel y col., 1979), y disminuye cuando aumentan los niveles de HDL-colesterol (Martin y col., 1986; Castelli y col., 1986; Gordon y col., 1989). Además el cociente LDL-colesterol/HDL-colesterol proporciona información sobre la proporción relativa de colesterol transportado en fracciones lipoproteicas “no deseables” *versus* “deseables”, y se considera un buen predictor de riesgo cardiovascular (Gordon y col., 1977). La apo AI y apo B son las proteínas principales de las partículas HDL y LDL respectivamente. Estas apolipoproteínas se muestran como los mejores discriminantes de incidencia de enfermedad cardiovascular en estudios casos-control (Avogaro y col., 1979; Genest y col., 1992).

Por lo tanto parece claro que la relación entre dieta y enfermedad cardiovascular está mediada fundamentalmente por la influencia de ciertos componentes dietéticos sobre la composición de las lipoproteínas plasmáticas (Gordon y col., 1981; McGee y col., 1984; Kahn y col., 1984; Kuschi y col., 1985; Kromhout y col., 1985), lo que da lugar al desarrollo del proceso arteriosclerótico y sus manifestaciones clínicas (Grande, 1979). Sin embargo, teniendo en cuenta la patogenia multifactorial de la arteriosclerosis, la dieta ejerce influencia sobre otros factores de riesgo cardiovasculares (hipertensión, obesidad, diabetes), o sobre la fisiología del sistema de coagulación y las relaciones endotelio-plaquetas.

A continuación revisaremos de que forma algunos factores dietéticos pueden alterar el metabolismo lipídico y con ello causar modificaciones en el perfil lipídico y lipoproteico de los individuos, y su posible relación con la enfermedad cardiovascular.

#### **1.5.1. Influencia de la composición lipídica de la dieta sobre las lipoproteínas**

La influencia de la composición de la grasa dietaria sobre los niveles séricos de colesterol fue un hecho probado a mitad de siglo por varios investigadores (Ahrens y col., 1957; Keys y col., 1957; Ahrens, 1957). Sin embargo, los estudios de Keys y col. (1957, 1965) y de Hegsted y col. (1965) proporcionaron las primeras estimaciones cuantitativas de los efectos del colesterol y ácidos grasos dietarios sobre las concentraciones de colesterol sérico. Posteriormente se han desarrollado otros algoritmos predictivos, entre

los que se incluyen predicciones para la respuesta al cambio dietario del LDL-colesterol y HDL-colesterol (Hegsted y col., 1993; Mensink y col., 1992; Yu y col., 1995) (Cuadro 18). A pesar de que estas relaciones entre los cambios en las concentraciones de lípidos séricos producidos como consecuencia de la modificación dietaria son claros y válidos para grandes grupos de población, existe una gran variabilidad individual en la respuesta del colesterol sérico a la dieta (Okey y col., 1993). En algunos individuos los niveles de colesterol sérico decrecen dramáticamente como consecuencia del consumo de una dieta muy baja en grasa, mientras que permanecen sin cambios en otros. Jacobs y col. (1983) demostraron en 58 hombres sometidos a diversas condiciones dietarias que alrededor del 3% eran "no responders", el 64% respondían dentro del 30% de lo esperado según la ecuación predictiva de Keys-Minnesota, el 9% se clasificaban como "hiporesponders" y el 9% restante tenían una respuesta significativamente mayor a la esperada. Otros estudios demuestran que la respuesta individual se mantiene constante bajo diferentes condiciones dietarias. En este sentido Katan y col. (1986) observaron que los individuos clasificados como "hiperresponders" e "hiporesponders" en base a su respuesta al colesterol de la dieta, permanecían bajo la misma categoría en sucesivos experimentos dietarios. Clifton y col. (1990) también demostraron que la sensibilidad al colesterol dietario está determinada significativamente por los niveles basales de colesterol.

Aunque no existen evidencias claras en humanos la respuesta de las lipoproteínas séricas a la manipulación dietaria puede tener un fuerte componente genético (Eggen, 1976; West y col., 1974; Imai y col., 1973). Estudios recientes en humanos confirman los resultados obtenidos en animales. Jansen y col. (1997) estudiaron la respuesta lipídica a la grasa y colesterol dietario en individuos con o sin una mutación, que consiste en la sustitución de serina por treonina en la posición 347 en el gen que codifica para la apo AIV, y concluyeron que este polimorfismo genético afecta a la respuesta del colesterol sérico, LDL-colesterol y apo B frente a la manipulación dietaria. También se ha observado que el polimorfismo de Guanina→Adenosina en la posición 76 del gen promotor de la apo AI tiene un pequeño efecto, pero significativo, en la respuesta del LDL-colesterol a cambios en la sustitución de la grasa dietaria, especialmente en mujeres (Mata y col., 1998).

Teniendo en cuenta todas estas consideraciones se puede afirmar que es el tipo y cantidad de grasa ingerida el factor que ejerce un efecto fundamental sobre los niveles de lípidos y lipoproteínas plasmáticos, ya que determina principalmente las concentraciones de colesterol sérico y su distribución en las lipoproteínas (Grundey y Denke, 1990; Katan y col., 1994, 1995; Dietschy, 1997). Pero como veremos a continuación los efectos del colesterol

dietario y de los distintos ácidos grasos de la dieta sobre el perfil lipídico de los humanos se modulan entre sí, y a su vez están influidos por características propias del individuo tales como concentraciones basales de colesterol, edad, sexo y variabilidad genética.

Ecuación de Keys y col. (1965):

$$\Delta CT = 1,35 (2 \Delta S - \Delta P) + 1,52 \Delta Z$$

Ecuación de Hegsted y col. (1965) (1):

$$\Delta CT = 2,16 \Delta S - 1,65 \Delta P + 0,067 \Delta C - 0,53$$

Ecuación de Mensink y Katan (1992):

$$\Delta CT = 1,51 \Delta S - 0,12 \Delta M - 0,60 \Delta P$$

$$\Delta LDL-C = 1,28 \Delta S - 0,24 \Delta M - 0,55 \Delta P$$

$$\Delta HDL-C = 0,47 \Delta S + 0,34 \Delta M + 0,28 \Delta P$$

Ecuación de Hegsted y col. (1993) (2):

$$\Delta CT = 2,10 \Delta S - 1,16 \Delta P + 0,067 \Delta C$$

$$\Delta LDL-C = 1,74 \Delta S - 0,77 \Delta P + 0,044 \Delta C$$

$$\Delta HDL-C = 0,43 \Delta S + 0,10 \Delta M + 0,22 \Delta P + 0,043 \Delta C$$

Ecuación de Yu y col. (1995):

$$\Delta CT = 2,02 \Delta (12:0-16:0) - 0,03 \Delta 18:0 - 0,48 \Delta M - 0,96 \Delta P$$

$$\Delta LDL-C = 1,46 \Delta (12:0-16:0) + 0,07 \Delta 18:0 - 0,69 \Delta M - 0,96 \Delta P$$

$$\Delta HDL-C = 0,62 \Delta (12:0-16:0) - 0,06 \Delta 18:0 + 0,39 \Delta M + 0,24 \Delta P$$

**Cuadro 18.** Ecuaciones predictivas para estimar los cambios en el colesterol, LDL-C y HDL-C plasmáticos en respuesta al colesterol y ácidos grasos dietarios.  $\Delta CT$ : cambios en el plasma de colesterol total, expresado en mg/dL;  $\Delta LDL-C$  e  $\Delta HDL-C$ : cambios en el plasma de LDL-C y HDL-C expresados en mg/dL;  $\Delta S$ ,  $\Delta M$  y  $\Delta P$ : cambios en el porcentaje de la ingesta calórica diaria de AGS, monoinsaturados (AGM) y AGP respectivamente;  $\Delta Z$ : cambios en la raíz cuadrada de la ingesta diaria de colesterol en la dieta en mg/1000 kcal;  $\Delta C$ : cambios en la ingesta dietaria de colesterol en mg/día (1) o en (mg/1000 kcal (2). Tomado de Kris-Etherton y Yu (1997).

#### 1.5.1.1. Colesterol dietario

Numerosos estudios en animales de experimentación han demostrado la capacidad del colesterol de la dieta para modificar los niveles de colesterol sérico total (Quazi y col., 1983; Huang y col., 1986), principalmente debido al incremento de la fracción esterificada de este esteroide (Ross y Zilversmit, 1977). Por otro lado, Rudel y col. (1985) observaron en monos que dietas enriquecidas en colesterol incrementaban el tamaño y número de las LDL en plasma, así como el contenido de ésteres de colesterol de estas partículas. Mas

recientemente Stucchi y col. (1998) observaron que monos cynomolgus alimentados con dietas que contenían distintas concentraciones de colesterol dietario, respondían de manera dosis-dependiente incrementando significativamente los niveles de colesterol sérico, LDL-colesterol y LDL-apo B, sin apreciarse cambios consistentes en HDL-colesterol y HDL-apo AI. Estas elevaciones en los lípidos y lipoproteínas séricos eran el resultado de una mayor producción de LDL-apo B junto con la reducción en su aclaramiento.

Esta relación, entre el colesterol dietario y los lípidos séricos, ha sido establecida en el hombre confirmando los hechos previos observados en animales (Connor y col., 1964; Keys y col., 1965a; Quintao y col., 1971; Schaefer y col., 1981; Katan y col., 1986; Grundy y col., 1990; Brown y col., 1991; Mensink y col., 1992; Hopkins, 1992; Gylling y col., 1992), así como su asociación positiva con el riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular (Stamler y col., 1970; Stamler y col., 1972; Armstrong y col., 1975; Shekelle y col., 1981; Kromhout y col., 1984; McGee y col., 1984; Kushi y col., 1985; Kromhout y col., 1985; Shekelle y col., 1989).

En general la ingesta de colesterol eleva la colesterolemia, aumentando tanto las concentraciones de HDL-colesterol como las de LDL-colesterol, aunque la mayor parte del cambio es atribuido a la fracción LDL-colesterol (Katan y col., 1994). Sin embargo existen grandes diferencias interindividuales (Keys y col., 1965; Beynen y col., 1987; Grundy y col., 1988; Grundy y col., 1990; Li-Ching Lyu y col., 1994).

Según Beynen y col. (1987) esta diferente respuesta a la cantidad de colesterol dietario podría estar relacionada principalmente con dos mecanismos metabólicos de regulación: la supresión de la síntesis endógena de colesterol y el aumento de la excreción biliar en forma de ácidos biliares. Respecto al primer mecanismo, parece estar relacionado con la capacidad de disminución de la síntesis de colesterol por parte de las células periféricas en respuesta al aumento del contenido de colesterol celular y diferente control de la expresión y regulación de la actividad de los receptores LDL específicos de dichas células (Applebaum-Bowden y col., 1984; Brown y Goldstein, 1984). Respecto a la excreción biliar de colesterol se ha comprobado que, aunque aumenta dicha excreción en forma de ácidos biliares, la excreción fecal de esteroides neutros no aumenta, lo que implica la reabsorción intestinal del colesterol que forma parte de los ácidos biliares (Lin y Connor, 1980). Fielding (1997) afirma que aquellos individuos que responden al colesterol dietario experimentan un incremento en los niveles de LDL-colesterol que puede ser resultado directo de un aumento en la actividad plasmática de la proteína transportadora de ésteres de colesterol, este efecto no está mediado por los receptores LDL hepáticos.

Por otra parte, la capacidad de absorción de colesterol en el intestino humano está limitada al 40%-50% de lo ingerido, con amplias diferencias intraindividuales e interindividuales. Esta variabilidad depende de múltiples factores, uno de los cuales es la parcial determinación genética de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal, como apunta el hecho de la mayor absorción en personas con el fenotipo 4 de la apo E (Clifton y col., 1990). En general, la respuesta al colesterol dietario varía en un rango amplio en comparación a la de otras variables dietarias (McNamara y col., 1987; Connor y col., 1989; Grundy y col., 1990).

Teniendo en consideración todos los factores mencionados, aunque la mayoría de las evidencias soportan la premisa de que una alta ingesta de colesterol dietario resulta en concentraciones mas altas de colesterol sérico total, todavía no está claro si el incremento es lineal Hegsted y col. (1965) o curvilíneo Keys y col. (1957b), o si hay un valor crítico o umbral (Hopkins, 1992; Connor y col., 1964; Beynen y col., 1985; Glueck y col., 1982).

Concretamente Stone y col. (1990) y Clifton y col. (1990) afirman que la mayor influencia del colesterol dietario sobre la colesterolemia se produce con ingestas entre 0 y 300 mg diarios de colesterol, existiendo un dintel, cercano a 500 mg diarios, a partir del cual no se modificaría el colesterol sérico. De acuerdo con esto el NCEP ha recomendado restringir la ingesta de colesterol dietario a 300 mg/día para los normocolesterolémicos y a < 200 mg/día para sujetos hipercolesterolémicos (The Expert Panel, 1988; The Expert Panel, 1993; The Expert Panel, 1993b).

También es importante resaltar que el contenido en grasa saturada modifica la respuesta al colesterol (Stone y col., 1990; Clifton y col., 1990), existiendo correlación entre la sensibilidad a las modificaciones en el colesterol sérico provocadas por los cambios en la ingestión de grasa saturada y de colesterol (Spady y col., 1988). El efecto hipercolesterolemizante está mediado por una supresión en la actividad de los receptores de LDL (Applebaum-Bowden y col., 1984). La explicación de este y otros mecanismos mediante los cuales el colesterol y el tipo de grasa dietaria influyen en la colesterolemia serán tratados con detalle mas adelante.

#### **1.5.1.2. Ácidos grasos dietarios**

Se acepta de forma general que los ácidos grasos saturados de cadena larga son los principales hipercolesterolemizantes de la dieta, a excepción del ácido esteárico que no parece afectar los niveles de colesterol (Garrido y Mata, 1994) y el ácido palmítico que parece



comportarse como hipercolesterolémico en determinadas circunstancias (Hayes y Khosla, 1992; Ng y col., 1992; Hayes, 1995).

Los ácidos grasos insaturados como sustitutos de los ácidos grasos saturados de la dieta reducen las concentraciones plasmáticas de colesterol (Keys y col., 1965; Hegsted y col., 1965). Tanto los ácidos grasos monoinsaturados como los poliinsaturados disminuyen los niveles del colesterol total y la fracción LDL, pero mientras las dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados disminuyen también el nivel de HDL-colesterol cuando están en concentraciones elevadas, las ricas en ácidos grasos monoinsaturados mantienen o aumentan esta fracción, considerándose por ello mejores en la prevención de aterosclerosis (Mattson y Grundy, 1985; Ginsberg y col., 1990; Mata y col., 1992; Hegsted y col., 1993).

Estos cambios en las lipoproteínas son independientes de la situación pre o posmenopáusica (Mata y col., 1992).

Para explicar los mecanismos a través de los cuales los diferentes ácidos grasos dietarios influyen en la colesterolemia en la figura 21 se muestra esquemáticamente los principales caminos para la adquisición y movimiento del colesterol entre los compartimentos tisulares del cuerpo.

Los ácidos grasos dietarios se encuentran predominantemente como triglicéridos en las grasas naturales de origen animal y vegetal. En el intestino los triglicéridos dietarios son hidrolizados a ácidos grasos libres y monoglicéridos, los cuales son absorbidos por el enterocito, y se vuelven a sintetizar triglicéridos que junto con el colesterol dietario son incorporados en los quilomicrones. Los triglicéridos del núcleo de los quilomicrones son hidrolizados a ácidos grasos libres, los cuales son captados prioritariamente por el tejido adiposo y el músculo. Los quilomicrones remanentes, que todavía contienen la mayoría del colesterol dietario que ha sido absorbido, son rápidamente aclarados del suero, principalmente por un receptor hepático específico, la LRP, y en menor proporción por el receptor de la LDL (Kita y col., 1982; Herz y col., 1988; Beisiegel y col., 1989; Kowal y col., 1989; Rubinsztein y col., 1990; Willnow y col., 1994). Los hepatocitos, por tanto, reciben la mayoría del colesterol que ha sido absorbido y además se enriquecen en los ácidos grasos específicos que constituían los triglicéridos de la dieta.

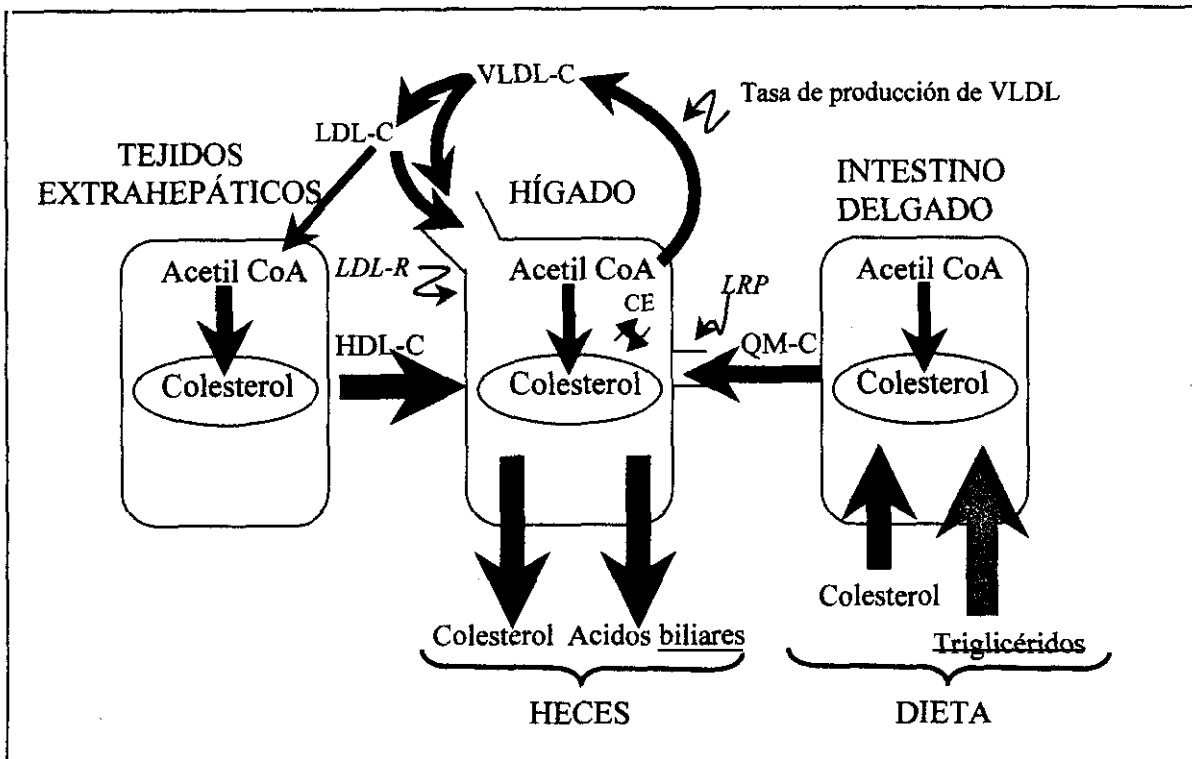
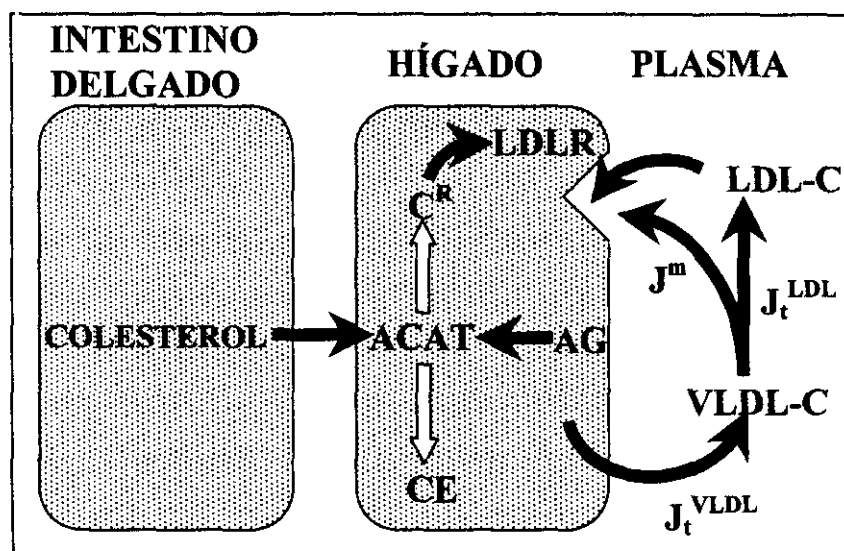


Figura 21. Esquema del flujo del colesterol a través del cuerpo

Como se resume en la figura 22, el hígado es indiscutiblemente el órgano mas importante en el metabolismo de dos clases de lipoproteínas, VLDL y LDL. El colesterol transportado por las VLDL es secretado por el hígado a una velocidad denominada velocidad de producción de VLDL-C ( $J_t^{VLDL}$ ). El hígado se encarga de aclarar del plasma una parte de las VLDL remanentes a través de los receptores de LDL, el resto son convertidas en LDL a una velocidad designada como velocidad de producción de LDL ( $J_t^{LDL}$ ), las cuales son posteriormente captadas por el hígado (Dietschy y col., 1993). Al menos, dos procesos de transporte están involucrados en la captación de las LDL plasmáticas. El primero y mayoritario es un proceso de captación receptor-dependiente que manifiesta una cinética de saturación y está mediado por el LDL-receptor (Goldstein y Brown, 1984; Brown y col., 1986). En humanos con dietas relativamente bajas en colesterol el 58% del LDL-colesterol plasmático es aclarado por esta vía, y prácticamente la totalidad de la actividad del LDL-receptor se identifica en el hígado (Dietschy y col., 1993; Spady y col., 1986). El segundo proceso de eliminación de las LDL es un proceso independiente del LDL-receptor que presenta una cinética lineal con respecto a la concentración de LDL-colesterol (Spady y col., 1986; Spady y col., 1987; Spady y col., 1985), pero no se conoce que receptor o proceso endocítico media esta captación. En humanos este proceso independiente del LDL-receptor contribuye al aclaramiento del 42% del colesterol transportado por las LDL (Dietschy y col.,

1993) y al 100% en aquellos individuos que carecen de actividad LDL-receptor (Bilheimer y col., 1979; Bilheimer y col., 1984). El 60-70% de la actividad de este transportador independiente del LDL-receptor, que se puede identificar in vivo, se localiza en el compartimento tisular extrahepático (Osono y col., 1995). Por lo tanto en una situación normal, en la que la actividad del LDL-receptor hepático es alta, la mayoría del LDL-colesterol es transportado al hígado y de esta forma aclarado del plasma; cuando la actividad del LDL-receptor hepático está suprimida, la cantidad de LDL-colesterol eliminado por el sistema de transporte receptor-independiente, localizado principalmente en el compartimento tisular extrahepático, aumenta. Por lo tanto como se muestra en la figura 22, la concentración de LDL-colesterol está determinada principalmente por la velocidad de producción de LDL-colesterol, por el nivel de actividad del LDL-receptor hepático ( $J^m$ ) y por la afinidad de la partícula LDL por el LDL-receptor (Dietschy, 1997).



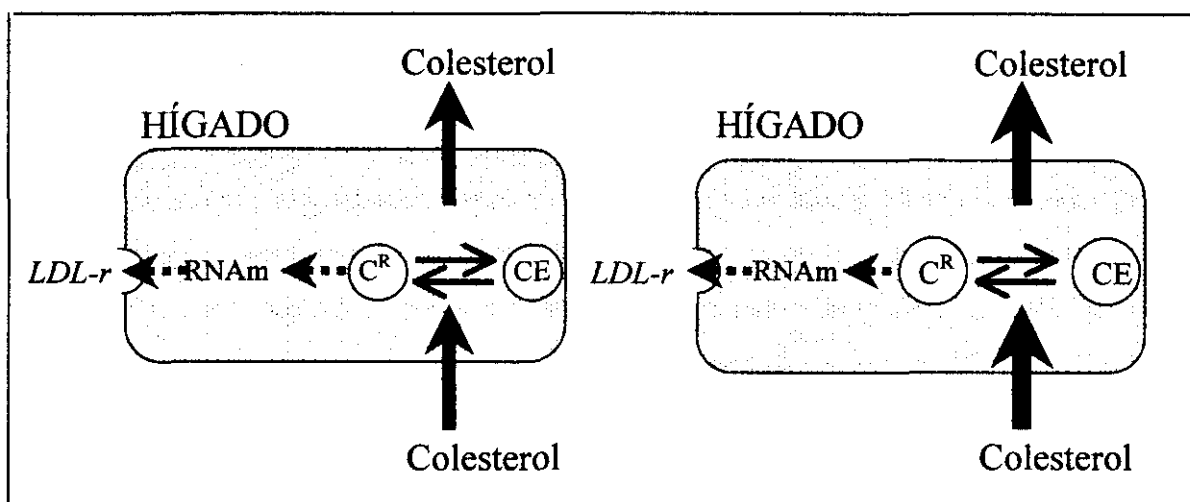
**Figura 22.** Modelo de los pasos principales que regulan las concentraciones de LDL-colesterol. (Dietschy y col., 1997; Meddings y Dietschy, 1987).

Tanto el colesterol como los ácidos grasos dietarios influyen en las concentraciones de LDL-colesterol, y presumiblemente actúan modificando la actividad del LDL-receptor hepático, la velocidad de producción de LDL o ambas cosas. En la actualidad se intenta conocer la manera en que los hepatocitos son sensibles a la concentración de colesterol celular, y si el colesterol y los ácidos grasos dietarios actúan a través de mecanismos independientes, mediante un único mecanismo regulador de las concentraciones de LDL-colesterol. Existen pequeñas dudas sobre si la actividad del LDL-receptor está regulada por el contenido en esteroides de las células. Estudios recientes (Sato y col., 1994) han demostrado que cada célula sintetiza una proteína precursora denominada *sterol*

*regulatory element binding protein* (SREBP) que está unida a la membrana nuclear y al retículo endoplásmico. Cuando el contenido celular en esteroides es bajo una proteasa específica actúa separando un fragmento de este precursor proteico (Duncan y col., 1997). Este fragmento penetra en el núcleo donde activa la transcripción del gen que codifica para el LDL-receptor. Cuando el pool de colesterol libre de la célula, llamado pool regulador ( $C^R$ ), está expandido, se inhibe la escisión de SREBP, y como consecuencia se reduce la transcripción de LDL-receptor y la actividad funcional del LDL-receptor disminuye (Brown y Goldstein, 1997; Duncan y col., 1997).

Spady y col. (1993), propusieron un modelo que explica como el colesterol y los ácidos grasos dietarios alteran la actividad del LDL-receptor hepático a través de este mecanismo celular. Este modelo asume que ambas clases de lípidos dietarios alteran el tamaño del  $C^R$  a través de su influencia en la reacción de esterificación del colesterol catalizada por la ACAT (Brown y Goldstein, 1997). La actividad de este enzima es constitutiva y la velocidad de reacción está determinada por la disponibilidad de ambos sustratos, es decir colesterol y ácidos grasos (Suckling y col., 1985). Cuando la dieta es rica en colesterol éste llega al hígado y presumiblemente se produce una expansión del  $C^R$  con la consiguiente supresión parcial de la actividad del LDL-receptor y el incremento paralelo del pool de ésteres de colesterol (CE). Aunque el tamaño del  $C^R$  no se puede medir directamente, en este tipo de regulación siempre se da una relación inversa entre la concentración celular de ésteres de colesterol y la actividad hepática del LDL-receptor (Daumerie y col., 1992, Spady y col., 1993; Woollett y col., 1992). La actividad del LDL-receptor varía linealmente e inversamente con la concentración de ésteres de colesterol en el hígado. En esta situación, en la que la regulación sólo está articulada por el colesterol dietario, las concentraciones de  $C^R$  y CE en la célula hepática incrementan en paralelo y su cociente permanece constante (Spady y col., 1993). Figura 23.

Este modelo se puede usar para explicar los efectos reguladores de los distintos ácidos grasos dietarios sobre las concentraciones de LDL-colesterol. Esta conclusión se apoya en la observación de que el efecto cuantitativo de los ácidos grasos dietarios depende de la afluencia simultánea de colesterol al hígado (Fielding y col., 1995; Dietschy, 1997).

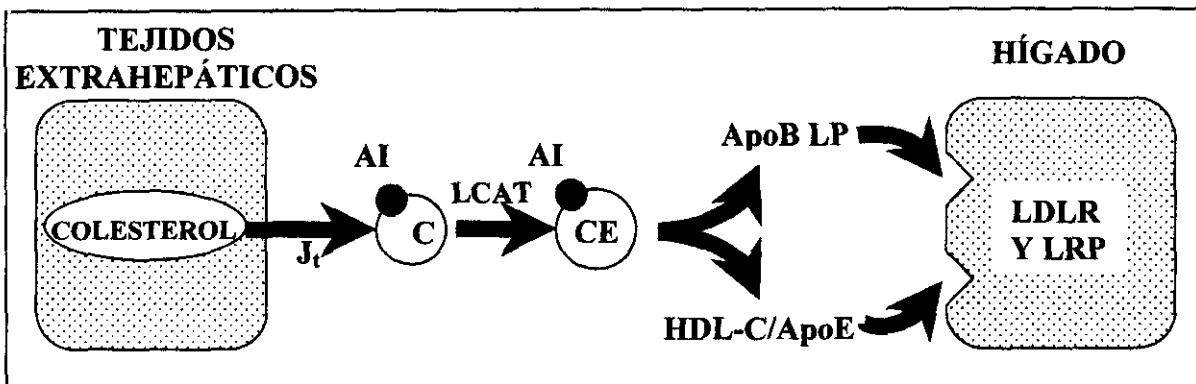


**Figura 23.** Mecanismo de regulación de la actividad del LDL-receptor ( $LDL-r$ ) por el balance neto de colesterol a través del hígado. (Tomado de Dietschy, 1997)

También el colesterol y los ácidos grasos dietarios influyen en las concentraciones de HDL-colesterol. Botham y col. (1997), llevaron a cabo un experimento en ratas a las que alimentan con dietas con distinto contenido graso, y observaron que en general las dietas altas en grasa tienden a incrementar las concentraciones de LDL-colesterol y a reducir las de HDL-colesterol en comparación con dietas bajas en grasa. Y si la grasa es saturada la transferencia de colesterol a la fracción HDL es particularmente lenta. Sin embargo, en humanos el consumo de una dieta alta en grasa se suele asociar con un aumento en la concentración de HDL-colesterol (Dietschy, 1997).

Para comprender los mecanismos involucrados en la regulación de las concentraciones de HDL-colesterol por la grasa dietaria se muestra en la figura 24 un esquema de los principales pasos involucrados en el movimiento del colesterol desde los tejidos extrahepáticos hasta el hígado a través de la vía HDL-colesterol. En esta figura se observa que el exceso de colesterol de los tejidos extrahepáticos debe moverse a través de las membranas celulares hacia un aceptor presente en el fluido pericelular (Johnson y col., 1991). La velocidad de este movimiento se puede considerar análoga al término de velocidad de producción de LDL-colesterol y se designa como  $J_t$ . El aceptor de este colesterol puede ser una partícula pequeña, pobre en lípidos, que contiene esencialmente apo AI y fosfolípidos (Fielding y col., 1995). La LCAT reacciona con esta partícula formando ésteres de colesterol que se mueven al núcleo de la HDL. A partir de aquí se han descrito tres posibles mecanismos para explicar la transferencia de ésteres de colesterol al hígado: 1º) El CETP puede catalizar el movimiento neto de ésteres de colesterol de las HDL a otras lipoproteínas que contienen apo B, las cuales son aclaradas por el hígado a través de la intervención del

LDL-receptor o la LRP (Fielding y col., 1995). La superexpresión del CETP disminuye la concentración de HDL-colesterol e incrementa los niveles de LDL-colesterol y VLDL-colesterol. 2º) En algunas situaciones las partículas HDL grandes adquieren apo E y por tanto pueden ser aclaradas por los dos receptores reconocidos en las células hepáticas. 3º) Los ésteres de colesterol pueden ser selectivamente eliminados de las HDL por el hígado (Glass y col., 1985).



**Figura 24.** Movimiento del colesterol desde los tejidos extrahepáticos hasta el hígado a través de la vía HDL-colesterol (tomado de Dietschy, 1997).

Por tanto, la concentración de HDL-colesterol puede variar por cambios en la velocidad de entrada de esteroides en la vía, es decir por variaciones en  $J_t$ , o por cambios en las velocidades de síntesis o degradación de apo AI, LCAT, o CETP. Por ejemplo, un incremento en  $J_t$  o una mayor expresión de apo AI se asocia con mayores concentraciones de HDL-colesterol (Osono y col., 1995; Pászty y col., 1994; Plump y col., 1994). Por el contrario el aumento en la expresión de CETP produce un descenso importante de los niveles de colesterol transportado por las HDL (Marotti y col., 1993).

Desafortunadamente hay poca información sobre como el colesterol y los ácidos grasos dietarios afectan a cada uno de los pasos que determinan las concentraciones de HDL-colesterol. En relación al colesterol dietario se sabe que su consumo se relaciona con un aumento en la expresión del gen que codifica para el CETP (Jiang y col., 1992), y esto supondría una menor concentración de HDL-colesterol.

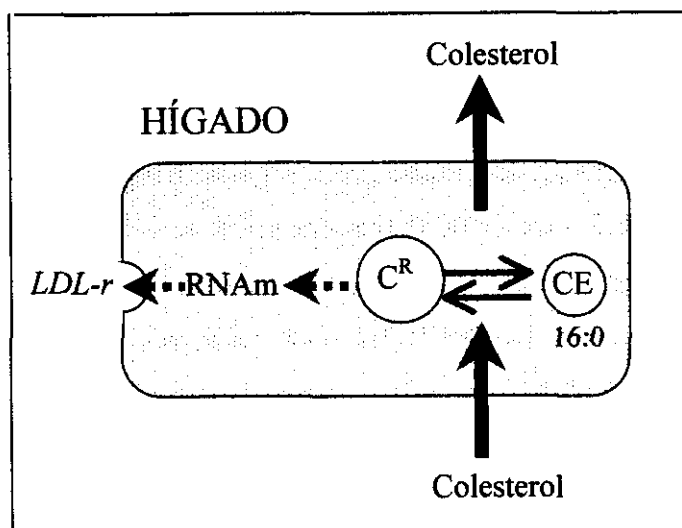
#### 1.5.1.2.1. Ácidos grasos saturados

Ya a mitad del siglo XX estaba plenamente establecido que el alto consumo de grasas saturadas producía mayores concentraciones de colesterol sérico (Hegsted y col., 1965; Keys y col., 1965a). Trabajos posteriores indican que este incremento en el colesterol

sérico total es consecuencia de niveles mas altos de LDL-colesterol y HDL-colesterol (Nicolosi y col., 1990; Grundy y col., 1990). En este mismo sentido se pronuncian Mensink y Katan (1992), quienes recopilaron datos de estudios realizados entre 1970 y 1991 en los que se evaluó el efecto de los ácidos grasos dietarios sobre los lípidos y lipoproteínas séricas, y propusieron unas ecuaciones que relacionaban los cambios en la ingesta de ácidos grasos dietarios con cambios en las concentraciones de HDL-colesterol, LDL-colesterol y triglicéridos. De acuerdo con estas ecuaciones de regresión se concluyó que la sustitución isocalórica de ácidos grasos saturados por hidratos de carbono conducía a un incremento importante de los niveles séricos de colesterol, principalmente debido al incremento de la fracción LDL-colesterol y en menor medida del HDL-colesterol. También se observó, como consecuencia de esta sustitución, un descenso no significativo en las concentraciones séricas de triglicéridos. En estudios de población también se han encontrado asociaciones positivas entre la ingesta de ácidos grasos saturados y las concentraciones de HDL-colesterol tanto en hombres como en mujeres (Li-Ching Lyu y col., 1994; Kesteloot y col., 1989).

En general se puede decir que los ácidos grasos saturados dietarios tienen un efecto hipercolesterolemizante, destacando su influencia sobre la fracción LDL-colesterol (Mata y col., 1996; Dreon y col., 1998). Este incremento en el LDL-colesterol esta mediado por una reducción en el aclaramiento de esta fracción lipoproteica, como consecuencia de una menor actividad de los receptores celulares de LDL, y por el incremento en la producción de LDL-colesterol (Nicolosi y col., 1990; Woollett y col., 1992). Los ácidos grasos saturados aumentan el tamaño del pool  $C^R$  hepático y en consecuencia disminuye la concentración de RNAm para la transcripción de receptores hepáticos de las LDL, reduciéndose así la actividad de los mismos (Dietschy, 1997). Por este motivo se limita la internalización celular de las LDL y se elevan sus niveles plasmáticos (Figura 25). Este mecanismo de regulación está articulado por el efecto de los ácidos grasos sobre la reacción catalizada por la ACAT. Cuando un ácido graso saturado, por ejemplo el ácido palmítico, se ingiere junto con colesterol, la esterificación de los esteroides es parcialmente inhibida, el tamaño del pool CE se reduce y presumiblemente el pool  $C^R$  se expande (Daumerie y col., 1992; Nicolosi, 1997). Son una excepción los ácidos grasos saturados de cadena media (de 8 a 10 carbonos) que son considerados neutros en este aspecto (Hashim y col., 1960; Grundy, 1994). Respecto a los ácidos grasos saturados de cadena larga, algunos autores (Keys y col., 1957; Grande y col., 1970; Bonanome y Grundy, 1988; Woollett y col., 1992; Zoch y Katan, 1992; Kris-Etherton y col., 1993; Kris-Etherton y Yu, 1997; Rhee y col., 1997) consideran que el ácido esteárico no se comporta como hipercolesterolemizante, debido a que apenas se absorbe, a que se

convierte rápidamente en el organismo en ácido oleico gracias a la enzima  $\Delta^9$  desaturasa, o a que no suprime la expresión del LDL-receptor, por lo que es considerado “neutro” en su acción sobre el colesterol sérico.



**Figura 25.** Regulación de la actividad del LDL-receptor por los ácidos grasos saturados. Tomado de Kris-Etherton (1995).

El efecto cuantitativo de los ácidos grasos dietarios depende de la afluencia simultánea de colesterol al hígado. La magnitud del efecto hipercolesterolémico de los ácidos grasos saturados es cuantitativamente mucho mayor cuando se ingieren altas cantidades de colesterol dietario y menor cuando las dietas son bajas en colesterol (Fielding y col., 1995). Hayes y col. (1997) observaron que la grasa saturada dietaria ejerce un efecto despreciable sobre el aclaramiento de LDL en ausencia de colesterol dietario y cuando la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados es adecuada (aproximadamente del 5 a 10% de la energía) y los individuos parten de un perfil lipoproteico relativamente normal (LDL-colesterol < 90 mg/dL). En estos casos el incremento del LDL-colesterol debido a los ácidos grasos saturados, particularmente ácido laurico + mirístico, parece reflejar la superproducción de LDL, asociada con un desplazamiento del colesterol procedente de los tejidos al pool plasmático de ésteres de colesterol (tanto LDL-colesterol como HDL-colesterol), sin alterarse el balance total de colesterol en el cuerpo. Se desconoce la razón de este desplazamiento, pero es posible que refleje la reducción en la hidrólisis hepática de ésteres de colesterol. Cuando los individuos son hiperlipémicos por otros factores (por ejemplo, exceso crónico de ingesta calórica y de colesterol dietario) los ácidos grasos saturados, particularmente el ácido palmítico, contribuyen al descenso en la actividad del LDL-receptor debido a un factor primario, tal como sería la ingesta de colesterol. Sin embargo, la baja actividad (*down regulation*) del LDL-receptor debido al colesterol dietario excede con mucho cualquier



contribución de los ácidos grasos saturados.

Como ya hemos apuntado anteriormente no todos los ácidos grasos saturados dietarios son igualmente hipercolesterolémicos. Los ácidos grasos saturados de cadena corta y media tales como el butírico, caproico, caprílico y cáprico, son rápidamente oxidados en el hígado a acetil CoA. Estos ácidos grasos no alteran la composición del pool de lípidos en el hígado, no cambian la concentración de colesterol libre o esterificado en el hepatocito y no alteran la actividad del LDL-receptor hepático. Por tanto se les considera biológicamente neutros con respecto a la regulación de la concentración de LDL-colesterol (Dietschy, 1998; Nicolosi, 1997). Así la idea general es que los efectos de estos ácidos grasos son similares a los de los hidratos de carbono (Grundy, 1994). Sin embargo Cater y col. (1995) encontraron que los ácidos grasos saturados de cadena media incrementaban las concentraciones de colesterol sérico y de LDL-colesterol en la misma medida que el aceite de palma (rico en ácido palmítico) comparados con aceite de girasol alto en ácido oleico. Sin embargo, la influencia de estos ácidos grasos saturados sobre las concentraciones de LDL-colesterol es pequeña ya que su ingesta es normalmente baja.

Del total de ácidos grasos saturados que componen la mayoría de las dietas ingeridas por humanos, del 60% al 70% lo constituyen la suma de ácido laurico, mirístico y palmítico, siendo este último el mayoritario, seguido de ácido mirístico y laurico (Katan y col., 1994), y en general todos ellos aumentan las concentraciones séricas de colesterol. Sin embargo, su potencia hipercolesterolemia es controvertida (Mensink y Katan, 1992; Denke y Grundy, 1992; Hegsted y col., 1965; McGandy y col., 1970; Sundram y col., 1991; Ng y col., 1991; Ng y col., 1992; Hayes y col., 1991).

Respecto al ácido laurico, la idea general es que tiene un modesto efecto hipercolesterolemia. Denke y Grundy (1992) estudiaron en 14 sujetos el efecto colesterolémico de la sustitución de un 17% de energía como ácido palmítico por ácido laurico, y observaron que la dieta de ácido laurico redujo las concentraciones de colesterol sérico total y LDL-colesterol un 4% y un 6% respectivamente, sin afectar significativamente los niveles de HDL-colesterol. Estos autores concluyen que el poder hipercolesterolemia del ácido laurico es 2/3 del que posee el ácido palmítico. Sin embargo, Temme y col. (1994) observaron que una dieta rica en laurico causaba concentraciones mas altas de colesterol sérico, HDL-colesterol y LDL-colesterol que una dieta rica en palmítico. Este efecto también se ha visto en sujetos hipercolesterolémicos (Cox y col., 1995). Por otro lado al valorar el efecto sobre la colesterolemia del ácido laurico comparado con el oleico; el primero siempre muestra un efecto hipercolesterolemia, aumentando significativamente las concentraciones

de colesterol total y LDL-colesterol, aunque no así las de HDL-colesterol (Denke y Grundy, 1992).

Desde hace mucho tiempo se ha sostenido que el mirístico es el ácido graso dietario con mayor poder hipercolesterolemizante. Hegsted y col. (1965) fueron pioneros en este campo, y llegaron a esta conclusión a partir de un análisis de regresión múltiple basado en una serie de ensayos controlados. Zock y col. (1994) estudiaron el efecto colesterolémico de la sustitución dietaria de un 10% de energía como ácido palmítico por mirístico, y observaron que este intercambio producía un incremento significativo de las concentraciones de colesterol total, LDL-colesterol y HDL-colesterol. Este efecto hipercolesterolemizante propio del ácido mirístico era mas marcado cuando se comparaba con el ácido oleico. Estos autores sostienen que el ácido mirístico es aproximadamente 1,5 veces más hipercolesterolemizante que el palmítico, cifra menor que la encontrada por las ecuaciones de Hegsted y col. (1965; 1993), Mensink y Katan (1992) y Yu y col. (1995), en las que se indica que el efecto hipercolesterolemizante del ácido mirístico es de 4 a 6 veces mayor que el del palmítico. Además, la mitad del efecto del mirístico sobre la colesterolemia es debido al incremento en la fracción HDL-colesterol. Temme y col. (1997) también sostienen que el ácido mirístico es hipercolesterolemizante, aumentando tanto las concentraciones de LDL-colesterol como HDL-colesterol. Sin embargo Tholstrup y col. (1994) en un estudio similar al anterior obtuvieron resultados opuestos, es decir la sustitución de ácido palmítico por mirístico además de no incrementar los niveles de colesterol sérico total y LDL-colesterol produjo un descenso en las concentraciones de HDL-colesterol.

Hayes y Khosla (1992) sostienen que el ácido mirístico, que normalmente contribuye con solo el 1-3% de la ingesta energética total, es extremadamente hipercolesterolemizante. Estos mismos autores indican que el efecto sobre la colesterolemia del ácido laurico depende de la ausencia o presencia de mirístico en la dieta. Pero normalmente las grasas comestibles con altas concentraciones de ácido mirístico también tiene invariablemente altas cantidades de laurico, como es el caso del aceite de cacahuete o de ácido palmítico en la manteca. La mezcla de ácido laurico y ácido mirístico, al menos en jóvenes normocolesterolémicos con ingestas bajas de colesterol, aumenta este lípido en suero y sus fracciones HDL y LDL más que el ácido palmítico (Sundram y col., 1994; Pronczuk y col., 1994), acción que se debe fundamentalmente al efecto hipercolesterolemizante del ácido mirístico. La ingesta de aceite de cacahuete (ácido laurico + ácido mirístico) es la única grasa saturada que en ausencia de colesterol dietario aumenta consistentemente la colesterolemia (Spady y Woollett, 1990; Nicolosi y col., 1990).

Por otro lado Hayes y Khosla (1992) indican que el efecto hipercolesterolémico del ácido mirístico puede ser atenuado por la ingesta de ácido linoleico. Ya que estos autores han comprobado que cuando la ingesta de ácido mirístico supone mas del 2% de la ingesta energética total y el consumo de ácido linoleico es menor de un 4% de la ingesta energética, el efecto hipercolesterolemizante del mirístico es muy potente. Sin embargo, si la ingesta dietaria de ácido linoleico supera ese umbral del 4%, se conseguiría paliar los efectos hipercolesterolémicos del ácido mirístico.

En lo que se refiere al ácido palmítico, algunos autores han observado que tiene efecto hipercolesterolémico comparado con el ácido laurico (Denke y Grundy, 1992), con el ácido esteárico (Tholstrup y col., 1994; Bonanome y Grundy, 1988) y con el ácido oleico (Zock y col., 1994), aumentando en todos los casos tanto las concentraciones de colesterol total sérico como las de LDL-colesterol.

Sin embargo, algunos investigadores sostienen que los efectos del ácido palmítico sobre el pool de colesterol plasmático, principalmente sobre la fracción LDL, pueden diferir dependiendo de las circunstancias dietarias y del individuo, las cuales influyen en la actividad inherente del LDL-receptor hepático y/o en el efecto de este ácido graso sobre la actividad de dicho receptor (Spady y Dietschy, 1988; Spady y Woollett, 1990; Nicolosi y col., 1990). Ng y col. (1992) comprobaron en humanos normocolesterolémicos que la sustitución parcial en la dieta de ácido oleico por ácido palmítico no afecta las concentraciones de colesterol total ni el cociente LDL-colesterol/HDL-colesterol. Sin embargo si esta misma sustitución se hace en sujetos hipercolesterolémicos y/o con dietas altas en colesterol y/o con ingestas bajas de ácido linoleico, el efecto del ácido palmítico es claramente hipercolesterolémico elevando tanto el colesterol total como la fracción LDL-colesterol (Mattson y col., 1985; Rudel y col., 1990).

Estudios realizados en monos sugieren que el ácido palmítico es hipercolesterolémico en aquellas circunstancias en las que los LDL-receptores hepáticos presentan poca actividad (Hayes y col., 1991; Khosla y Hayes, 1992b; Khosla y Hayes, 1991). Esta situación se puede presentar cuando la ingesta de colesterol dietario es elevada. En este sentido Hayes y Khosla (1992) observan que en humanos que ingieren dietas bajas en colesterol (<400 mg/día) el ácido palmítico no tiene efecto sobre la concentración de colesterol plasmático, sin embargo cuando las dietas son ricas en colesterol, y por tanto la actividad del LDL-receptor está comprometida, el efecto hipercolesterolémico de este ácido graso es patente.

Algunos estudios en ratas han encontrado asociación entre la ingesta de ácido

palmítico y la producción de LDL aterogénicas, siempre y cuando la dieta fuese alta en colesterol (Sugamo e Imaizumi, 1991).

En definitiva, parece probable que el ácido palmítico no altere significativamente el metabolismo del colesterol cuando la ingesta energética es adecuada, las grasas son transportadas y aclaradas bajo circunstancias fisiológicas normales y el aporte de ácido linoleico es adecuado. Sin embargo en sujetos hipercolesterolémicos, en obesos, en hiperinsulinémicos, en personas afeadas y en general en aquellos individuos donde la actividad del LDL-receptor está comprometida, el ácido palmítico parece tener un efecto negativo sobre el metabolismo del colesterol.

El ácido esteárico, comparado con los otros ácidos grasos saturados de cadena larga disminuye significativamente las concentraciones de colesterol total sérico, LDL-colesterol y HDL-colesterol (Tholstrup y col., 1994; Tholstrup y col., 1994b; Bonanome y col., 1988). Cuando se valora su efecto sobre la colesterolemia en relación al de un ácido graso monoinsaturado, como sería el ácido oleico, se observa que no modifica los niveles de colesterol plasmático, por lo que se le puede considerar a este respecto neutral (Bonanome y col., 1988). Grundy y Denke (1990), indican que el ácido esteárico es rápidamente transformado en ácido oleico por un proceso de desaturación, y por este motivo presenta efectos relativamente neutrales sobre los lípidos plasmáticos. En relación a los ácidos grasos insaturados el ácido esteárico causa un modesto descenso en la fracción HDL-colesterol (Bonanome y Grundy, 1988; Zock y Katan, 1992). Se puede resumir que los ácidos esteárico y oleico tienen efectos similares sobre el colesterol total y LDL-colesterol, pero son completamente diferentes en lo que se refiere al HDL-colesterol (Katan y col., 1994).

En general la mayoría de los autores aceptan que el ácido esteárico es un ácido graso dietario con efecto neutral sobre la colesterolemia (Ng y col., 1992; Nicolosi, 1997; Schwab y col., 1996; Dietschy, 1998).

Por otro lado, es interesante resaltar el efecto de la saturación de la grasa dietaria sobre la concentración plasmática de Lp(a), que como ya se ha comentado en el apartado 1.2.4.3. de esta Revisión Bibliográfica, es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular y sus niveles plasmáticos dependen principalmente del polimorfismo genético. En este sentido Clevidence y col. (1997) estudiaron en un grupo de hombres y mujeres el efecto de una dieta alta en grasa (40% de la ingesta energética) y alta en ácidos grasos saturados (16,2% de energía aportada por la suma de ácido laurico, mirístico y palmítico) sobre los niveles de Lp(a), y observaron que la concentración de esta lipoproteína disminuía significativamente de un 8% a un 11% aproximadamente. En este mismo sentido se pronuncian Lahoz y col.

(1998), quienes observan que la grasa saturada dietaria modifica significativamente las concentraciones plasmáticas de Lp(a) en dirección opuesta a los cambios producidos sobre la fracción LDL-colesterol, aunque este efecto no era clínicamente relevante.

Por último cabe destacar que aunque la ingesta de ácidos grasos saturados por si solos no afecta negativamente a ciertos factores de riesgo cardiovasculares, como podrían ser los niveles de Lp(a) o la presión sanguínea (Aro y col., 1998), es muy clara y fuerte su asociación con la progresión de enfermedad arterial coronaria (Watts y col., 1996), quizás por el perjuicio que producen sobre otros parámetros lipídicos y lipoproteicos.

#### 1.5.1.2.2. *Ácidos grasos monoinsaturados*

Desde la década de los 60 (Keys y col., 1965; Hegsted y col., 1965) los ácidos grasos monoinsaturados, y por tanto el ácido oleico como máximo representante de este grupo, han sido considerados “neutrales” en su acción sobre los lípidos plasmáticos, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados aparecen como hipocolesterolemiantes. Por este motivo, históricamente el interés se centraba en que la relación ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados (AGP/AGS) de la dieta fuera adecuada sin dar importancia a la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados. Sin embargo en poblaciones del área mediterránea que tradicionalmente consumen una dieta muy alta en ácidos grasos monoinsaturados, principalmente procedentes del aceite de oliva, presentan niveles plasmáticos de colesterol y tasas de enfermedad cardiovascular relativamente bajas (Keys, 1970; Keys, 1980). Igualmente otros estudios han demostrado una asociación inversa entre el consumo de ácido oleico y la enfermedad isquémica (Keys y col., 1986), lo cual puede deberse a su efecto hipolipemiante (Mattson y Grundy, 1985). Estos hechos hacen pensar que el consumo de grasa monoinsaturada tiene importantes efectos beneficiosos sobre el perfil lipoproteico y de riesgo cardiovascular.

La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que la sustitución de ácidos grasos saturados por grasa monoinsaturada produce un efecto hipocolesterolemiantes (Mattson y Grundy, 1985; Mensink y Katan, 1989; Dreon y col., 1990; Berry y col., 1992; Masana y col., 1991; Mata y col., 1992; Lichtenstein y col., 1993). Este efecto se traduce en concentraciones mas bajas de colesterol total plasmático y LDL-colesterol. Sin embargo hay dudas sobre la potencia hipolipemiante de los ácidos grasos monoinsaturados en relación a los poliinsaturados, y el efecto de ambos tipos de ácidos grasos sobre las concentraciones de HDL-colesterol. Sirtori y col. (1986) aseguran que una dieta rica en aceite de oliva reduce las

concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL-colesterol y apo B en la misma medida que una dieta rica en grasa poliinsaturada. Sin embargo ambas dietas se diferencian en sus efectos sobre las concentraciones de apo AI y HDL-colesterol. A este respecto estos autores observaron que la dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados aumenta los niveles de apo AI y no afecta o eleva ligeramente los de HDL-colesterol. Estos cambios en el perfil lipídico y lipoproteico se traducen en mejores cocientes HDL-colesterol/LDL-colesterol y apo AI/apo B en respuesta a la dieta rica en grasa monoinsaturada. Estos resultados están de acuerdo con los de otros investigadores (Mc Donald, 1989; Li-Ching Lyu y col., 1994).

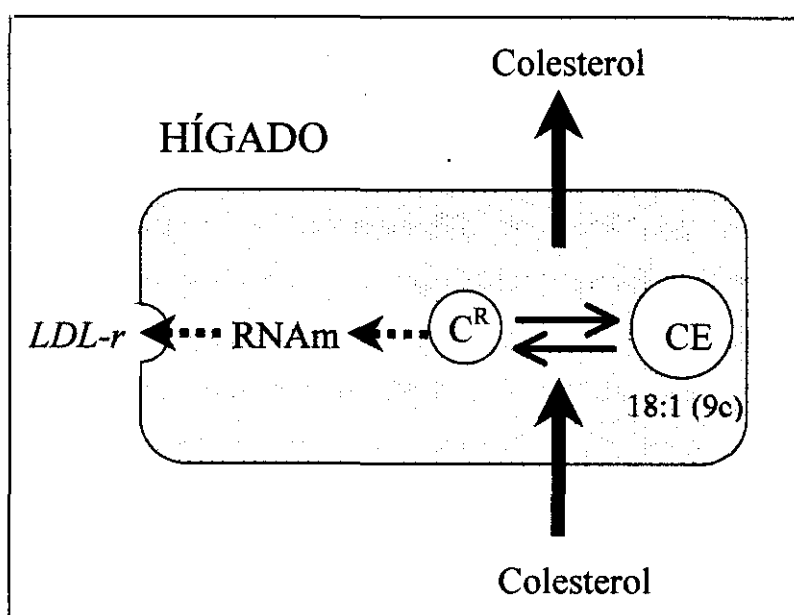
Por lo tanto, algunos estudios sugieren que los ácidos grasos monoinsaturados y los poliinsaturados son igual de eficaces en su acción reductora de las concentraciones plasmáticas colesterol total, LDL-colesterol y apo B cuando una cantidad moderada (4%-9%) de la energía proporcionada por cada uno de estos ácidos grasos se sustituye por el otro (Mensink, 1994; Baggio y col., 1988; Colquhoun y col., 1992; Garg y col., 1994; Rasmussen y col., 1993; Gustafsson y col., 1994; Ginsberg y col., 1994; Nydahl y col., 1994), y esto sucede tanto si las dietas son bajas en grasa, aproximadamente 30% de energía como grasa, (Warhrburg y col., 1992; Dreon y col., 1990) o altas en grasa total, aproximadamente 40% de energía como grasa (Mutanen, 1997; Mata y col., 1992; Mattson y Grundy, 1985; Mc Donald, 1989; Wardlaw y Snook, 1990; Wardlaw y col., 1991). Y sin embargo, en otros estudios se ha observado que el efecto hipocolesterolemia de los ácidos grasos monoinsaturados es menor que el de los poliinsaturados (Berry y col., 1991; Howard y col., 1995; Kris-Etherton y Yu, 1997), y aunque ambas clases de ácidos grasos disminuyen los niveles de colesterol total y LDL-colesterol cuando sustituyen a los ácidos grasos saturados, el ácido oleico es la mitad de potente comparado con el ácido linoleico en relación a su efecto hipolipemiente (Mensink y Katan, 1992; Yu y col., 1995). Por otra parte algunos autores aseguran que los ácidos grasos monoinsaturados superan a los poliinsaturados en su efecto hipocolesterolemia. Valsta y col. (1992) observaron que los ácidos grasos monoinsaturados disminuían significativamente las concentraciones plasmáticas de colesterol y LDL-colesterol en relación a los ácidos grasos poliinsaturados, es decir mostraban mayor potencia hipocolesterolemia, siendo el efecto sobre el colesterol total mas marcado en mujeres y el de LDL-colesterol mas acentuado en hombres. Sin embargo hay que señalar que en este estudio se utilizó como fuente de ácidos grasos monoinsaturados aceite de semillas de canola bajo en erucico, y en relación con el aceite de oliva rico en ácido  $\alpha$ -linolenico. Los mismos resultados obtuvieron Mensink y Katan (1989), y en este caso usaron como grasa monoinsaturada y poliinsaturada aceite de oliva y aceite de girasol respectivamente.

La respuesta individual a los cambios en la saturación de la grasa dietaria depende del status colesterolémico del individuo. Grundy y Vega (1988) sostienen que esta respuesta es mas pronunciada en sujetos con valores de LDL-colesterol  $>3,4$  mmol/L. A este respecto, se han hecho varios estudios que valoran la respuesta a la intervención dietaria en sujetos normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. Wardlaw y Snook (1990) comprobaron que las reducciones en las concentraciones plasmáticas de colesterol total y LDL-colesterol producidas por el consumo de grasa monoinsaturada procedente de aceite de girasol alto oleico en sustitución de ácidos grasos saturados, eran mayores en aquellos sujetos con niveles mas altos de colesterol plasmático (Dolecek y col., 1986), y estos resultados se mantenían aun consumiendo cantidades altas de colesterol dietario (500 mg/día). Incluso dietas bajas en grasa (26% de la ingesta energética total) enriquecidas con ácidos grasos monoinsaturados presentan ventajas en el control de las concentraciones de lipoproteínas séricas en personas con hipercolesterolemia, con respecto a dietas muy bajas en grasa (10% de la ingesta energética total) y altas en hidratos de carbono, ya que con éstas últimas se producen descensos indeseables en las concentraciones de HDL-colesterol (Morgan y col., 1997). Por tanto, se puede concluir que dietas enriquecidas en ácidos grasos monoinsaturados mejoran el perfil lipídico y lipoproteico, especialmente en pacientes con hipercolesterolemia e incluso con hiperlipemia combinada y en sujetos con diabetes mellitus tipo II (López Ledesma y col., 1996).

Esta claro que los ácidos grasos monoinsaturados afectan los niveles séricos de LDL-colesterol, pero el mecanismo responsable de este efecto sigue todavía bajo debate. Los estudios originales de Keys y col. (1965) y de Hegsted y col. (1965) indican que el efecto de los ácidos grasos monoinsaturados sobre los niveles plasmáticos de colesterol total no son independientes. En este sentido se pronuncian Wahrburg y col. (1992), quienes opinan que el efecto hipocolesterolemizante de los ácidos grasos monoinsaturados es pasivo, es decir, al incrementar el consumo de ácidos grasos monoinsaturados los saturados presentes en la dieta disminuyen, y por tanto la supresión de la actividad del LDL-receptor ejercida por estos ácidos grasos desaparece y los receptores hepáticos de LDL vuelven a su actividad normal (Grundy y Denke, 1990; Bonanome y Grundy, 1989). Esta hipótesis también la comparten Ginsberg y col. (1990). Según estos autores, desde un punto de vista mecánico el ácido oleico puede ser efectivamente "neutral", y el nutriente "activo" en el intercambio dietario serían los ácidos grasos saturados, que como ya se ha comentado disminuyen el aclaramiento de LDL-colesterol porque suprimen la actividad del LDL-receptor (Grundy, 1989). Teniendo en

cuenta estos criterios, es la reducción de la grasa saturada la que directamente produce un efecto beneficioso sobre el perfil lipídico (Keys, 1986).

Sin embargo, otros investigadores otorgan a los ácidos grasos monoinsaturados un papel "activo" en la regulación de los niveles lipídicos y lipoproteicos. Loscalzo y col. (1987) sugirieron que la explicación fisiológica de los efectos de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre las concentraciones de LDL-colesterol se basaba en que se producía un aumento de la captación y degradación de estas partículas a través de las membranas celulares, indicando una modificación de la actividad del LDL-receptor (Baudet y Jacotot, 1988). Estos autores afirmaban que puesto que los ácidos grasos insaturados incrementan la fluidez de las membranas, esta aseveración podría constituir una de las posibles explicaciones del efecto de dichos ácidos grasos. Datos más recientes indican que el mecanismo por el cual los ácidos grasos monoinsaturados influyen en los niveles de colesterol total y LDL-colesterol parece ser que implica la modificación del tamaño del pool  $C^R$ . Con el consumo de grasa monoinsaturada al hígado le llega de forma enriquecida el sustrato preferido de la ACAT, es decir el ácido oleico. Esta situación favorece la esterificación del colesterol el cual pasa del pool  $C^R$  al pool CE, y la actividad del LDL-receptor aumenta por lo que consecuentemente disminuyen los niveles de colesterol en sangre (Daumerie y col., 1992; Spady y col., 1993; Woollett y col., 1994). Además, este efecto regulador aumenta cuando el colesterol también está presente en la dieta (Dietschy., 1998), (Figura 26).



**Figura 26.** Regulación de la actividad del LDL-receptor por los ácidos grasos monoinsaturados. Tomado de Dietschy, 1997.



Un estudio muy actual de Bucci y col. (1998) confirma esta hipótesis. Estos autores investigaron el efecto de diferentes ácidos grasos libres sobre la actividad del LDL-receptor en células BHK-21. Estas células poseen un LDL-receptor clásico fuertemente regulado por sustancias como el 25-OH-colesterol o la lovastatina. La preincubación de estas células durante 24 horas con ácido *cis*-oleico y su isómero, el ácido elaidico, aumentó la unión, internalización y degradación de partículas LDL marcadas con  $I^{125}$ , siendo el ácido oleico más efectivo que el ácido elaidico. El análisis Scatchard de los datos de unión obtenidos con el ácido oleico mostró que este ácido graso afecta el número de LDL-receptores sin alterar la afinidad del receptor.

Los efectos de los ácidos grasos dietarios sobre las concentraciones de HDL-colesterol son todavía controvertidos, y sin embargo está plenamente aceptado que descensos en los niveles plasmáticos de HDL-colesterol son indeseables ya que existe una relación inversa entre la fracción HDL-colesterol y el riesgo de enfermedad coronaria (Castelli y col., 1986). Las concentraciones de HDL-colesterol son un predictor de riesgo cardiovascular tanto en hombres como en mujeres (Abbott y col., 1988), y el efecto de la dieta sobre los niveles de HDL-colesterol puede diferir entre ambos sexos (Mensink y Katan, 1987; Crouse 1989). Mensink y Katan (1989) observaron que cuando la grasa saturada se eliminaba de la dieta y era reemplazada por ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, los niveles de HDL-colesterol y apo AI disminuían en los hombres mucho más que en las mujeres. Unos resultados similares obtuvieron Wahrburg y col. (1992), quienes hallaron cocientes apo AI/apo B más altos en mujeres que en hombres en respuesta a la sustitución de grasa saturada por insaturada, obteniéndose un valor más alto de este cociente con la dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados. Complementariamente, algunos estudios encuentran una elevación de las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol como resultado de la sustitución de ácidos grasos poliinsaturados con ácidos grasos monoinsaturados (Grundy y col., 1986; Schaefer y col., 1981; Carmena y col., 1989; Mattson y Grundy, 1985; Mensink y Katan 1987; Sirtori y col., 1986; Mata y col., 1992; Mata y col., 1992), y otros no observan modificaciones en los niveles de HDL-colesterol como resultado de la referida sustitución (Mensink y Katan 1989; Dreon y col., 1990; Ginsberg y col., 1990; Berry y col., 1991; Valsta y col., 1992; Shephers y col., 1978; Schaefer y col., 1981; Wardlaw y Snook, 1990; Baggio y col., 1988).

Estudios en primates sugieren que los ácidos grasos monoinsaturados aumentan las concentraciones de HDL-colesterol de manera transitoria (Rudel y col., 1990). Sin embargo, Mata y col. (1992) aseguran que este efecto es duradero.

Esta gran disparidad de resultados puede deberse al diferente contenido de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados usados en las dietas experimentales de todos estos autores. Por ejemplo, Mensink y Katan (1989) y Dreon y col. (1990) al sustituir aproximadamente un 5% de energía procedente de ácidos grasos poliinsaturados por monoinsaturados no encontraron diferencias en las concentraciones de HDL-colesterol, mientras que si la sustitución es del 9% (Mata y col., 1992) se observa un efecto beneficioso de los ácidos grasos monoinsaturados sobre el nivel de HDL-colesterol. Por lo tanto ingestas relativas de ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados, así como de otros nutrientes tales como grasa total e hidratos de carbono, pueden ser determinantes de los diferentes efectos de la grasa monoinsaturada y poliinsaturada sobre los lípidos y lipoproteínas en general, y sobre las concentraciones de HDL-colesterol en particular (Li-Ching Lyu y col., 1994).

Respecto al efecto de los ácidos grasos monoinsaturados sobre las concentraciones plasmáticas de apo AI, proteína mayoritaria de las partículas HDL, se ha documentado que dietas ricas en grasa monoinsaturada incrementan los niveles de esta apolipoproteína (Mensink y col., 1989), efecto menos marcado en hombres (Mensink y Katan, 1989), o no tienen ninguna influencia (Becker y col., 1983) comparadas con dietas basales altas en ácidos grasos saturados. En los estudios de Mata y col. (1992b) y Mata y col. (1992) se usaban dos dietas, una rica en ácidos grasos monoinsaturados y la otra en poliinsaturados, ambas con un alto contenido graso y un consumo de ácidos grasos saturados de aproximadamente el 10% de la ingesta energética. En ambos trabajos se encontró que el incremento en las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol, causado por la dieta de grasa monoinsaturada, se acompañaba de un aumento paralelo en los niveles de apo AI, y estos resultados se daban tanto en una población de mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas (Mata y col., 1992b), como en un grupo de hombres y mujeres de mediana edad (Mata y col., 1992). Valsta y col. (1992), a pesar de no observar cambios en las concentraciones de HDL-colesterol al comparar dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados con otras enriquecidas en ácidos grasos poliinsaturados, encontraron que la ingesta de grasa poliinsaturada provocaba concentraciones significativamente mas bajas de apo AI, con lo que el cociente apo AI/apo B era mas bajo. Estos resultados están de acuerdo con los de algunos estudios (Mensink y Katan, 1989; Wardlaw y Snook, 1990; Shepherd y col., 1978), pero no con todos (Sirtori y col., 1986; Becker y col., 1983). No existe una teoría contundente para explicar el descenso observado en los niveles de apo AI durante los periodos dietarios ricos en grasa poliinsaturada, aunque se piensa que se debe a una reducción en la velocidad de síntesis de

apo AI provocada por la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados (Shepherd y col., 1978). Estudios llevados a cabo en ratas (Osada y col., 1991) demuestran un incremento en la expresión hepática del RNAm que codifica la síntesis de apo AI, en aquellos animales que consumen dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados en comparación con los alimentados con dietas ricas en poliinsaturados.

Por otro lado, es interesante señalar que algunos autores sugieren que los ácidos grasos monoinsaturados pueden aumentar los niveles plasmáticos de triglicéridos en comparación con los ácidos grasos poliinsaturados (Chang y Huang, 1990; Mata y col., 1992b; Gustafsson y col., 1994), esta observación se ha corroborado recientemente por Gardner y Kraemer (1995). Sin embargo, este efecto sobre los triglicéridos plasmáticos no es compartido por otros investigadores, quienes opinan que los ácidos grasos monoinsaturados disminuyen (Bonanome y col., 1992; Baggio y col., 1988; Mensink y Katan, 1987) o no afectan (Mensink y Katan, 1989; Ginsberg y col., 1990; Wahrburg y col., 1992) los valores de triglicéridos plasmáticos.

En general, como consecuencia del efecto combinado de los ácidos grasos monoinsaturados sobre las concentraciones de LDL-colesterol y HDL-colesterol, el consumo de estos ácidos grasos se relaciona con mejores cocientes de riesgo cardiovascular. Es decir, la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados respecto a la de ácidos grasos poliinsaturados resulta en índices mas altos de HDL-colesterol/LDL-colesterol (Wahrburg y col., 1992; Mata y col., 1992b) y mas bajos de colesterol total/HDL-colesterol (Ginsberg y col., 1990; Mata y col., 1992), siendo este último un importante predictor de riesgo aterogénico (Castelli y col., 1983b).

Además de los efectos sobre las concentraciones de lípidos y lipoproteínas plasmáticas derivados del consumo de ácidos grasos monoinsaturados, es interesante señalar que estos ácidos grasos también tienen efecto sobre la susceptibilidad de las lipoproteínas a la oxidación. Como ya se ha comentado en el apartado 1.2.3.2 de esta Revisión Bibliográfica, la oxidación de las LDL aumenta su aterogenicidad. Pues bien, una gran cantidad de estudios confirman que el consumo de ácidos grasos monoinsaturados respecto al de poliinsaturados conduce a un descenso en la susceptibilidad de las LDL a la modificación oxidativa (Obryne y col., 1998; Berry y col., 1991; Parthasarathy y col., 1990; Bonanome y col., 1992; Kwoiterovich, 1997; Mata y col., 1997). La susceptibilidad de las LDL a la oxidación y la cantidad de productos de peroxidación formados se relacionan con el contenido lipoproteico en ácido oleico, ácido linoleico y con el cociente ácido linoleico/ácido oleico, el cual depende parcialmente de los ácidos grasos dietarios (Berry y col., 1992; Reaven y col., 1991; Reaven

y col., 1993). Un estudio reciente llevado a cabo en mujeres posmenopáusicas hipercolesterolémicas, confirma que el consumo de dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados rinde porcentajes mas altos de ácido oleico, y menores cocientes ácido linoleico/ácido oleico en las partículas LDL, así como aumentan el tiempo de iniciación "fase lag" y disminuye la formación de peróxidos lipídicos (Obryne y col., 1998). Estos resultados están de acuerdo con los de Bonanome y col. (1992), quienes además demuestran que el consumo de ácidos grasos monoinsaturados no induce cambios en el tiempo de inhibición del proceso de peroxidación, es decir no alteran el efecto protector del contenido antioxidante de las partículas LDL, lo que sucede es que las LDL una vez depletadas de su contenido antioxidante son mas resistentes al estrés oxidativo. Solà y col. (1997) estudiaron la influencia de la grasa dietaria sobre la modificación oxidativa de las partículas HDL<sub>3</sub> y obtuvieron resultados semejantes a los observados en LDL. Es decir, estos autores encontraron que la ingesta de una dieta rica en ácido oleico comparada con otra alta en ácido linoleico condujo a unas HDL<sub>3</sub> con un contenido en ácido oleico significativamente mas alto, y valores más bajos de TBARS. Además, el TBARS para estas partículas se correlacionaba negativamente con el cociente ácido oleico/ácido linoleico y positivamente con el porcentaje de ácido linoleico en sus fosfolípidos de membrana.

El ácido oleico puede ejercer otros efectos beneficiosos sobre la patogénesis de la enfermedad cardiovascular por una gran variedad de mecanismos. En este sentido, Karman y col. (1997) determinaron que el ácido oleico en comparación con el ácido linoleico ejerce efectos protectores directos sobre las células endoteliales vasculares, ya que atenúa los daños causados por las LDL-oxidadas pudiendo retardar así el proceso aterosclerótico mediante el descenso del flujo de macromoléculas al interior de la pared vascular. Lopez Segura y col. (1996), atribuyen a dietas ricas en grasa monoinsaturada efectos beneficiosos sobre el sistema fibrinolítico, ya que decrecen la actividad plasmática del PAI-1, parámetro normalmente incrementado en pacientes con enfermedad cardiovascular.

Por último, algunos autores aseguran que el aceite de oliva tiene potentes acciones inmunomodulatorias (Yaqoob, 1998), y este hecho es de gran importancia ya que las células del sistema inmune son parte inherente del proceso de inflamación involucrado en la aterosclerosis. Yaqoob y col. (1998) en un estudio llevado a cabo en humanos, concluyen que los ácidos grasos monoinsaturados no afectan la actividad de las células natural killer ni la proliferación de leucocitos, pero si disminuyen significativamente la expresión de moléculas de adhesión, proponiendo otro mecanismo por el que estos ácidos grasos pueden influir en el desarrollo del proceso aterosclerótico.

1.5.1.2.3. *Ácidos grasos poliinsaturados n-6*

Cuando los ácidos grasos poliinsaturados sustituyen isocalóricamente a los ácidos grasos saturados en la dieta se producen descensos en las concentraciones plasmáticas de colesterol total (Hegsted y col., 1965; Keys y col., 1965a; Kinsell y col., 1953; Ahrens y col., 1959; Gordon y col., 1982). Este efecto hipocolesterolemizante se produce principalmente por la reducción de la fracción LDL-colesterol (Mata y col., 1992; Iacono y Dougherty, 1991; Nestel, 1987; Grundy y Denke, 1990; Li-Ching Lyu y col., 1994), y puede ser debido a un número menor de moléculas de ésteres de colesterol por partícula LDL y/o a un número inferior de estas partículas. Estudios en animales han comprobado que el consumo de dietas altas en ácidos grasos poliinsaturados puede alterar el tamaño y densidad de las LDL (Rudel y col., 1991; Sawyer y col., 1989). Se sabe que la presencia de LDL pequeñas se correlaciona directamente con la existencia de lesiones ateroscleróticas (Campos y col., 1992). Estudios en animales han demostrado que monos alimentados con grasa poliinsaturada n-6 tienen mayores concentraciones hepáticas de ésteres de colesterol y menores de triglicéridos (Johnson y col., 1985), en comparación con animales alimentados con dietas ricas en grasa saturada. Durante la perfusión hepática se observa una mayor secreción de ésteres de colesterol y menor de triglicéridos (Johnson y col., 1985), sin ningún cambio en la secreción de apo B o en la cantidad de RNAm para la apo B (Sorci-Thomas y col., 1989). Además, el hígado secreta el mismo número de partículas lipoproteicas nacientes, pero éstas parecen estar enriquecidas en ésteres de colesterol, lo que puede conferirles un diferente destino metabólico. Por ejemplo, si las VLDL secretadas contienen más ésteres de colesterol que las partículas LDL, estas VLDL pueden ser aclaradas del plasma sin transformarse en LDL. Quizás el enriquecimiento en ésteres de colesterol les confiere un mayor contenido en apo E, lo que ayuda a su catabolismo hepático antes de su conversión en LDL. Esto podría explicar las menores concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol en aquellos animales alimentados con grasa poliinsaturada. Otro factor a considerar es el número y actividad de los LDL-receptores hepáticos, hecho de extrema importancia en la regulación de las concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol. Dietschy (1998), expone que los ácidos grasos poliinsaturados n-6 impiden la down-regulation de los LDL-receptores hepáticos inducida por un alto consumo de colesterol dietario. Estudios en animales confirman esta afirmación, al observar que el descenso en la actividad funcional de los LDL-receptores producido por el colesterol dietario puede impedirse con el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-6. Por lo tanto la grasa poliinsaturada n-6 aumenta la tasa de aclaramiento

de las LDL mediante la vía de los LDL-receptores hepáticos. Esto implicaría que las concentraciones plasmáticas de LDL-apo B fueran diferentes, ya que el efecto sería en el número de partículas LDL que están en circulación, hecho confirmado por Rudel y col. (1986), quienes observaron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de apo B inducidas por la grasa poliinsaturada n-6. Por lo tanto, el efecto hipocolesterolemizante de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 se produce por dos mecanismos: por una parte el hígado produce VLDL ricas en ésteres de colesterol que son aclaradas del plasma sin convertirse en LDL, y en segundo lugar los ácidos grasos poliinsaturados n-6 mantienen o incrementan la actividad de los LDL-receptores hepáticos por lo que aumentan el aclaramiento de las LDL (Thornburg y Rudel, 1992).

Los estudios clásicos mostraban que los ácidos grasos poliinsaturados eran más hipocolesterolémicos que los monoinsaturados, al producir mayores descensos en las concentraciones plasmáticas de colesterol total y LDL-colesterol (Keys y col., 1965; Hegsted y col., 1965). En la actualidad este hecho no está claro, ya que mientras que algunos autores apoyan dicha afirmación (Berry y col., 1991), otros otorgan a los dos tipos de ácidos grasos la misma potencia hipocolesterolemizante, tanto sobre el colesterol total como sobre la fracción LDL-colesterol (Bonanome y col., 1992; Mensink y Katan, 1989; Wardlaw y col., 1991; Dreon y col., 1990). En ninguno de estos estudios se tuvo en cuenta la concentración de componentes minoritarios como esteroides y escualeno en los aceites. Howard y col. (1995) demostraron que la sustitución de ácidos grasos monoinsaturados por poliinsaturados manteniendo constantes los niveles de colesterol, escualeno y esteroides en las dietas, disminuye el colesterol total y la fracción LDL-colesterol, aunque esta última de forma no significativa. Independientemente de estos resultados controvertidos, estudios recientes (Hayes y Khosla, 1992) sugieren que la concentración de ácido linoleico en la dieta es decisiva. En este sentido, la "teoría limitante del ácido linoleico" establece que se requiere una concentración de este ácido graso en la dieta por encima de un 3% para que éste ejerza los conocidos efectos hipocolesterolémicos.

Además de sus efectos sobre el colesterol plasmático total y LDL-colesterol, a los ácidos grasos poliinsaturados n-6 se les atribuye un efecto reductor de las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol cuando se comparan con los ácidos grasos saturados y con los monoinsaturados (Shepard y col., 1978; Grundy y col., 1986; Schaefer y col., 1981; Mattson y Grundy, 1985; Katan, 1984; Shepherd y col., 1980; Vega y col., 1982; Becker y col., 1983; Sirtori y col., 1986; Mensink y Katan, 1987; Grundy, 1989). La base teórica para explicar este efecto sigue sin determinar, pero estudios en humanos (Shepherd y col., 1978) sugieren

que los ácidos grasos poliinsaturados n-6 disminuyen la síntesis de apo AI sin modificaciones en su tasa catabólica fraccional, y en experiencias con primates no humanos (Sorci-Thomas y col., 1989; Stucchi y col., 1991) se ha observado una menor cantidad de RNAm para la síntesis de esta apolipoproteína. De acuerdo con esta teoría, Valsta y col., (1992), al igual que otros autores (Mensink y Katan, 1989; Wardlaw y Snook, 1990), encuentran niveles plasmáticos más bajos de apo AI después de una dieta enriquecida con grasa poliinsaturada, aunque en ninguno de estos estudios se observaron modificaciones en las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol.

En general este efecto hipocolesterolemizante sobre la fracción de HDL-colesterol se produce cuando las dietas tienen un contenido muy alto en ácidos grasos poliinsaturados n-6, con cocientes AGP/AGS  $> 2$  (Mattson y Grundy, 1985; Vega y col., 1982; Shepherd y col., 1978), mientras que consumos moderados de ácido linoleico n-6, entre un 10% y un 13% de la ingesta energética total (Mensink y Katan, 1989; Pietinen y Huttunen, 1987), o dietas con cocientes AGP/AGS  $\leq 1,5$  (Brussaard y col., 1980; Brussaard y col., 1982; Schwandt y col., 1982; Blaton y col., 1984; Lyu y col., 1994; Valsta y col., 1992; Dreon, 1990; McNamara y col., 1987; Cuchel y col., 1996), no producen descensos significativos en las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol. A pesar de esta norma general, algunos autores encuentran que dietas en las que los ácidos grasos poliinsaturados representan un 16% (Berry, 1991), 19% (Wardlaw y Snook, 1990), 22% (Wardlaw y col., 1991; Mc Donald y col., 1989) e incluso un 30% de la ingesta calórica total (Bonanome y col., 1992), es decir un contenido de ácidos grasos poliinsaturados muy superior al recomendado por la American Heart Association (1988) o por el National Cholesterol Education Program (1988), no producen descensos significativos en la fracción HDL-colesterol. En contraste con estos datos, también hay estudios que encuentran concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol significativamente más bajas con el consumo de dietas con un cociente AGP/AGS  $< 1,5$  (Mata y col., 1992b) e incluso  $< 1$  (Mata y col., 1992).

A parte de los discutidos efectos de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 sobre el total de HDL-colesterol, estudios con animales (Wolfe y col., 1991) han revelado que el consumo de grasa poliinsaturada n-6 produce cambios en la distribución de las subpoblaciones de las HDL, con predominio de partículas mas pequeñas con menor contenido en ésteres de colesterol. Este hecho ha sido corroborado por algunos estudios en humanos. Dreon y col., (1990) describen que dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados n-6 y con bajo contenido en grasa total no modifican las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol, pero si su distribución, ya que se producían aumentos en la masa y en los niveles plasmáticos de HDL<sub>2</sub>-

colesterol de un 23.5% y 50% respectivamente, además de una disminución de un 7% en las concentraciones de HDL<sub>3</sub>-colesterol sin modificación de su masa. Sin embargo, otras experiencias en humanos que utilizaban dietas con un contenido en ácidos grasos poliinsaturados n-6 similar al estudio anterior, cociente AGP/AGS = 1 y altas en grasa total (Valsta y col., 1992), observan que estas dietas producen concentraciones más bajas de HDL<sub>2</sub>-colesterol, sin cambios en los niveles plasmáticos de HDL<sub>3</sub>-colesterol y HDL-colesterol, y otros autores (Wardlaw y col., 1991) no encuentran modificaciones en las concentraciones plasmáticas de HDL-colesterol, HDL<sub>2</sub>-colesterol, y HDL<sub>3</sub>-colesterol con dietas en las que la grasa representa el 40% de la ingesta energética y los ácidos grasos poliinsaturados el 22% de la energía aportada por la grasa. No se conoce con exactitud cual sería la relevancia clínica de los posibles cambios en las subpoblaciones de las partículas HDL. A este respecto hay estudios (Miller y col., 1981; Gofman y col., 1966) que sugieren que los niveles plasmáticos de HDL<sub>2</sub>-colesterol y HDL<sub>3</sub>-colesterol se correlacionan inversamente con el riesgo de enfermedad cardiovascular. Otros autores describen asociaciones positivas entre el consumo de alcohol y las concentraciones plasmáticas de HDL<sub>3</sub>-colesterol (Williams y col., 1985) y aumentos en los niveles de HDL<sub>2</sub>-colesterol en sujetos que han perdido peso (Wood y col., 1988).

En cuanto al efecto del consumo de dietas altas en ácidos grasos poliinsaturados n-6 sobre las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, parece ser que éste produce descensos en esta clase de lípidos séricos (Valsta y col., 1992; Schwandt y col., 1982; Weisweiler y col., 1985; Bonanome y col., 1992). Este efecto sería beneficioso, ya que la hipertrigliceridemia es considerada un factor de riesgo cardiovascular (Austin, 1989; Trevald y col., 1989).

Sin embargo, a los ácidos grasos poliinsaturados n-6 se les atribuye un efecto indeseable sobre la susceptibilidad de la LDL a la oxidación. El primer objetivo de la peroxidación son los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL (Steinberg y col., 1989; Esterbauer y col., 1987). Este proceso es inhibido por su contenido en antioxidantes. Partiendo de este hecho, reducir el contenido de antioxidantes y/o aumentar la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en las partículas LDL las haría mas susceptibles a la modificación oxidativa. En este sentido, Bonanome y col. (1992) comprueban que se produce un aumento significativo en el contenido de ácido linoleico de las LDL procedentes de sujetos que consumen dietas ricas en grasa poliinsaturada n-6, el cual se correlaciona con incrementos en la velocidad de peroxidación de estas partículas, sin cambios en carga antioxidante. Berry y col. (1991) observan que el consumo de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados se asocian positivamente con aumentos en la producción de TBARS tanto en



LDL como en suero. Mata y col. (1997) confirman este efecto de las dietas enriquecidas tanto en ácidos grasos poliinsaturados n-6 como en ácidos grasos poliinsaturados n-3.

En cuanto al nivel deseable de ingesta de ácido linoleico, principal representante de los ácidos grasos poliinsaturados n-6, no existen recomendaciones claras. Se sabe que una pequeña cantidad, es decir un 2% de la ingesta energética total, se requiere como ácidos grasos esenciales. La mayoría de los investigadores opinan que ingestas de ácido linoleico entre el 6% y 10% de la ingesta calórica son óptimas (Baggio y col., 1988; Thorngren y col., 1983). Sin embargo otros son partidarios de ingestas mas moderadas de ácido linoleico, alrededor del 5% (Bursztyn, 1987; NCEP, 1993), quizás preocupados por posibles efectos indeseables de la grasa poliinsaturada n-6 sobre las concentraciones de HDL-colesterol, la susceptibilidad de la LDL a la oxidación, o el riesgo de trombosis coronaria por aumento de la agregación plaquetar (Adam y col., 1986).

#### 1.5.1.2.4. *Ácidos grasos poliinsaturados n-3*

La mayor fuente dietaria de ácidos grasos poliinsaturados n-3 es el aceite de pescado, por ser especialmente rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3 de cadena larga tales como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) (Sánchez-Muniz, 1987; Kinsella y col., 1990; Sánchez-Muniz y Bastida, 1997). Otras fuentes distintas, concretamente de ácido  $\alpha$ -linolénico, son algunos aceites vegetales como el de linaza. La mayor parte del  $\alpha$ -linolénico dietario se usa como combustible, otra parte es incorporado a plaquetas y ésteres de colesterol y una muy pequeña fracción sufre elongación, proceso muy lento en el hombre. Sin embargo, una gran cantidad del EPA y DHA ingeridos se incorporan directamente a los fosfolípidos de plaquetas y son usados para la síntesis de eicosanoides (Marsen y col., 1992).

A los ácidos grasos poliinsaturados n-3 se les ha atribuido efectos hipocolesterolemiantes similares a los de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 (Dyerberg y col., 1978; Sánchez-Muniz, 1987; Sánchez-Muniz y col., 1991, Mutanen, 1997). Sin embargo, Sanders y col. (1997) observan un mayor descenso en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, LDL-colesterol, apo B y HDL<sub>3</sub>-colesterol y un incremento en las de HDL<sub>2</sub>-colesterol, debido a la disminución de la actividad del CETP (Abbey y col., 1990), con dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados n-3 respecto a las enriquecidas en grasa poliinsaturada n-6. El mecanismo por el cual los ácidos grasos poliinsaturados n-3 disminuyen los niveles de LDL-colesterol es el resultado de la reducción en la secreción

hepática de triglicéridos, efecto común con los ácidos grasos poliinsaturados n-6 pero mas potente (Phillipson y col., 1985), y el aumento de la actividad de los LDL-receptores hepáticos (Thornburg y Rudel, 1992). La reducción de los niveles de triglicéridos en suero se debe a que estos ácidos grasos inhiben en el hígado la actividad de la LCAT (Rustan y col., 1988) y así reducen la secreción hepática de lipoproteínas ricas en triglicéridos como las VLDL (Sánchez-Muniz, 1987; British Nutrition Foundation, 1992; Katan y col., 1994). También se ha observado una reducción de LDL y apo B en individuos tratados con aceite de pescado, independientemente de la secreción de VLDL. En sujetos hipercolesterolémicos el suplemento en la dieta con ácidos grasos poliinsaturados n-3 se comporta también como hipolipemiante, disminuyendo el colesterol total, la fracción LDL-colesterol y los triglicéridos, pero aumentando la HDL-colesterol y la apo B (Sirtori y col., 1992). Sin embargo los ácidos grasos poliinsaturados n-3 también pueden suprimir la actividad del LDL-receptor, quizás por un cambio en la estructura de las LDL en el hígado, lo que puede explicar el aumento en plasma de apo B y LDL-colesterol en algunos individuos (Glauber y col., 1988; Wilt y col., 1989; Gerhard y col., 1991; Lindsey y col., 1992). Algunos autores (Thornburg y Rudel, 1992; Sanders y col., 1997) encuentran un efecto paradójico de los ácidos grasos poliinsaturados n-3, ya que estos ácidos grasos elevan las concentraciones de Lp(a), lo cual podría afectar a la concentración de apo B independientemente de su efecto sobre las LDL.

En un estudio realizado en el Departamento de Nutrición en jóvenes voluntarias normolipémicas, la suplementación con 0,8 g/día de ácidos grasos poliinsaturados n-3 no produjo modificaciones significativas en los lípidos séricos, pero sí en la apo AI y apo B (Sánchez-Muniz y col., 1991). El cociente LDL-colesterol/apo B y el tamaño de las LDL se vio también significativamente aumentado.

Los ácidos grasos poliinsaturados n-3 además de sus efectos sobre el perfil lipídico y lipoproteico producen otros que influyen positivamente sobre el sistema cardiovascular. Ferretti y Flanagan (1996) aseguran que el ácido  $\alpha$ -linolénico es un modulador eficaz de la biosíntesis de tromboxano y prostaciclina, por lo que tiene propiedades antitrombóticas. Mutanen (1997) comprueba in vitro, la eficacia similar de los ácidos grasos linolénico y EPA+DHA sobre la reducción de la agregación plaquetar. Esto es de gran importancia, ya que la modificación de factores que influyen en la coagulación sanguínea y en la fibrinólisis son extremadamente importantes por su influencia decisiva en el proceso aterogénico, sobre todo en poblaciones arias (Sanders, 1996).

No existen recomendaciones específicas para el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-3. En la actualidad sería prudente recomendar ingestas moderadas, tanto de  $\alpha$ -linolénico, como de EPA y DHA. Una ingesta adecuada de  $\alpha$ -linolénico, ácido graso esencial, es probablemente  $\geq 1\%$  de la ingesta energética total (Schaefer y col., 1995).

#### 1.5.1.2.5. Ácidos grasos trans

Los ácidos grasos trans son isómeros geométricos de los ácidos grasos insaturados que normalmente tienen los dobles enlaces en configuración cis. Estos isómeros trans se forman por la hidrogenación catalítica de los aceites vegetales en las industrias alimentarias. Con este proceso se busca conseguir un aceite que se asemeje mas a la grasa animal y así, incrementar su aceptación por parte del consumidor o, disminuir la susceptibilidad de la grasa a la oxidación (Laine y col., 1982). La ingesta típica de ácidos grasos trans en las dietas de Norteamérica y del Noroeste de Europa está aproximadamente entre los 5-15 g/día (Zock y Katan, 1997). El ácido elaidico, isómero trans del ácido oleico, es el principal ácido graso trans que normalmente se consume en la dieta. Estudios recientes han observado efectos negativos sobre las lipoproteínas plasmáticas con el consumo de productos enriquecidos en ácido elaidico en comparación con el ácido oleico (Lichtenstein y col., 1993; Mensink y Katan, 1990; Zock y Katan, 1992; Nestel y col., 1992; Judd y col., 1994). Estos efectos incluyen incrementos en las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL-colesterol y descensos en las de HDL-colesterol, por lo que inducen un perfil lipídico adverso con cocientes colesterol total/LDL-colesterol y LDL-colesterol/HDL-colesterol significativamente mas altos (Khosla y Hayes, 1996; Kris-Etherton y Yu, 1997). Sundram y col. (1997) observaron que cuando se sustituía el ácido oleico o el ácido palmítico o la mezcla de ácido laurico + ácido mirístico por ácido elaidico en una cantidad que representaba el 5,5% de la ingesta energética total, se producía en todos los casos un aumento significativo en el nivel plasmático de Lp(a), además del resto de efectos adversos enunciados anteriormente. Estudios epidemiológicos han encontrado asociaciones positivas entre la ingesta de ácidos grasos trans y las concentraciones de colesterol total plasmático (Troisi y col., 1993), y la incidencia de enfermedad cardiovascular (Willett y col., 1993).

Los efectos de los ácidos grasos trans sobre las fracciones lipídicas LDL-colesterol y HDL-colesterol se producen cuando su consumo supone  $\geq 3\%$  de la ingesta energética total. Y actúan alterando la producción y aclaramiento de las LDL (Schaefer y col., 1995), así

como aumentando la transferencia de ésteres de colesterol de las HDL a las LDL al incrementar la actividad del CETP (Khosla y Hayes, 1996; Zock y Katan., 1997).

Es importante señalar que en ciertas zonas geográficas, los Países Bajos, Noruega, el Reino Unido y el Sur de Africa, los aceites de pescado parcialmente hidrogenados constituyen una importante fuente de ácidos grasos trans. Estos aceites de pescado contienen principalmente isómeros trans con una longitud de cadena de 20 a 22 átomos de C, y sus efectos sobre los lípidos y lipoproteínas podrían diferir de los del ácido elaidico (Katan y col., 1994).

### **1.5.2. Influencia de las vitaminas antioxidantes de la dieta sobre las lipoproteínas y el riesgo cardiovascular**

Existen muchas evidencias epidemiológicas que establecen una relación inversa entre la incidencia de enfermedad cardiovascular y niveles plasmáticos de antioxidantes. El estudio WHO/Mónica Project (Gey y col., 1987; Gey y col., 1989; Gey y col., 1991) detectó que esta relación era especialmente fuerte en el caso del  $\alpha$ -tocoferol. Rimm y Stampfer (1997), observan que las personas que consumen habitualmente suplementos de vitamina E presentan tasas de enfermedad cardiovascular un 40% más bajas. Estudios epidemiológicos en mujeres (Stampfer y col. 1993) y en hombres (Rimm y col., 1993) concluyen que si bien no puede hablarse de una relación causa-efecto, es clara la asociación entre el consumo de vitamina E mediante suplementos y un menor riesgo de cardiopatía coronaria. Lin y col. (1984), relacionan deficiencias crónicas de vitamina C o vitamina E con la aparición de lesiones ateroscleróticas. Gey y col. (1987) encontraron una correlación inversa entre las concentraciones plasmáticas de vitamina C y la mortalidad por enfermedad coronaria. Más recientemente Kushi y col. (1996) hicieron un seguimiento durante 7 años de un grupo de 34.486 mujeres posmenopáusicas libres de enfermedad cardiovascular al comienzo del estudio, y concluyeron que la ingesta de vitamina E procedente de la dieta se relacionó inversamente con el riesgo de muerte por enfermedad coronaria, siendo este riesgo aún menor en aquellas mujeres que tomaban suplementos de vitaminas. Esta relación no se mantenía en el caso de otras vitaminas antioxidantes tales como la vitamina A y ácido ascórbico. Daviglus y col. (1997) tampoco encontraron relación entre el riesgo de *stroke* y las ingestas de  $\beta$ -caroteno y vitamina C. Gaziano (1999) opina que el consumo de antioxidantes procedentes de frutas y vegetales se asocia con menores índices de infarto de miocardio y cáncer, y parecen reducir el riesgo cardiovascular. Opinión que comparten Maxwell y Lip (1997).

Algunos autores proponen que un bajo *status* antioxidante podría ser un factor de riesgo cardiovascular de mayor importancia que los ya establecidos como clásicos, tales como las concentraciones plasmáticas de colesterol y la presión sanguínea (Gey y col., 1991), ya que este factor junto con la peroxidación lipídica están involucrados en las fases tempranas de la aterosclerosis (Bonithon y col., 1997). Riemersma y col. (1991) identifican como factores de riesgo en las anginas de pecho prematuras a niveles plasmáticos bajos de  $\alpha$ -tocoferol y ascorbato. Gey y col. (1993) indican que los bajos niveles plasmáticos de vitamina C y caroteno constituyen un factor de riesgo de enfermedad cardíaca. Incluso algunos autores (Galley y col., 1997) aseguran que la terapia con altas dosis orales de una combinación de antioxidantes reduciría la presión sanguínea, un importante factor de riesgo cardiovascular, posiblemente por el aumento en la disponibilidad del óxido nítrico. En un estudio en sujetos con distinto grado de aterosclerosis, Kok y col. (1991) compararon los niveles en plasma de  $\alpha$ -tocoferol, ácidos grasos poliinsaturados y selenio, parte integral de la enzima antioxidante glutathion peroxidasa, y observaron que, aunque no existían diferencias para el  $\alpha$ -tocoferol y los ácidos grasos poliinsaturados entre los casos y los controles, la relación selenio/ácidos grasos poliinsaturados era significativamente mas baja en los sujetos con aterosclerosis, lo que sugiere que un nivel mas alto de ácidos grasos poliinsaturados con una protección antioxidante insuficiente constituye un mayor riesgo cardiovascular. A partir de estudios en animales (Bartfay y col., 1998; Douillet y col., 1998) se ha determinado la función sinérgica entre la vitamina E y el selenio en la mejora de las defensas antioxidantes. Miller y col. (1997) consideran que un bajo *status* antioxidante es un factor de riesgo cardiovascular independiente del resto de factores de riesgo ya establecidos tales como presión sanguínea y lípidos séricos, ya que la suplementación con antioxidantes no tiene acción sobre estas variables y sin embargo reduce el riesgo cardiovascular.

Steinbrecher y col. (1984) demostraron que la adición de una gran dosis vitamina E al medio de cultivo previene la oxidación de las LDL mediada por células endoteliales. Empleando dosis menores, se ha logrado demostrar una reducción, pero no una prevención completa de la oxidación de las LDL en cultivos celulares (Morel y col., 1984). Aunque el contenido en vitamina E y en antioxidantes totales de las LDL no es la única variable que influye en la modificación oxidativa de estas lipoproteínas (Jessupn y col., 1990; Estebauer y col., 1991b), también lo sería el contenido y tipo de ácidos grasos, se ha logrado demostrar que aquellas LDL más enriquecidas en  $\alpha$ -tocoferol son más resistentes a la modificación oxidativa (Reaven y col., 1993b). En un grupo de mujeres posmenopáusicas, Wander y col.

(1996) observaron que la suplementación con aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3 ocasionaba un aumento significativo en la excreción urinaria de TBARS, la cual decrecía linealmente con el consumo de dosis crecientes de  $\alpha$ -tocoferol. Incluso con dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados, que según algunos autores son mejores agentes protectores frente a la peroxidación lipídica que los antioxidantes dietarios (Mataix y col., 1998), suplementos orales de  $\alpha$ -tocoferol (1.600 UI/día) o de probucol (1g/día) confieren a estas lipoproteínas una protección añadida frente a la modificación oxidativa, efecto especialmente beneficioso para las subpoblaciones de LDL pequeñas las cuales son mas susceptibles a la oxidación (Reaven y col., 1996). Nyssönen y col. (1997), en un estudio realizado en hombres con alto riesgo de enfermedad cardiovascular, encontraron que la resistencia a la peroxidación lipídica en suero se asocia positivamente con las concentraciones de ácido ascórbico y  $\alpha$ -tocoferol.

Teniendo en cuenta los datos obtenidos de experiencias *in vitro* y de estudios epidemiológicos, parece lógico pensar que resultaría beneficioso aumentar la concentración de antioxidantes endógenos para conseguir así una protección óptima contra la modificación oxidativa. Además, el uso de antioxidantes tiene las ventajas de su relativa seguridad a dosis por encima de las recomendaciones dietarias (National Research Council, 1989), y la suplementación oral produce un incremento significativo de sus concentraciones plasmáticas (Fuller y Jialal, 1994).

Por este motivo se han llevado a cabo estudios de intervención, en los que se valora la eficacia de la suplementación dietaria con antioxidantes. Salonen y col. (1991) observaron que en individuos con una baja concentración de antioxidantes la suplementación diaria con una combinación de antioxidantes, 600 mg de ascorbato, 300 mg de  $\alpha$ -tocoferol, 27 mg de  $\beta$ -caroteno y 75 mg de selenio durante 5 meses, reducía los peróxidos lipídicos en suero, la agregación plaquetar y la producción de TXB<sub>2</sub>. Resultados similares obtienen otros autores (Jialal y Grundy, 1992; Princen y col., 1992; Abbey y col., 1993) con combinaciones de vitamina E y  $\beta$ -carotenos y/o vitamina C. Al igual que Abbey y col. (1993), quienes usaron como suplemento 1 cápsula al día que contenía  $\alpha$ -tocoferol (250 mg),  $\beta$ -caroteno (18 mg), vitamina C (900 mg) y zinc elemental (12 mg). Mosca y col. (1997) estudiaron como les afectaba a pacientes con enfermedad arterial coronaria suplementos de una combinación de altas dosis de antioxidantes formada por : 800 UI/día de vitamina E, 1 g/día de vitamina C y 24 mg/día de  $\beta$ -caroteno. Y concluyeron que altas dosis de nutrientes antioxidantes reducían

la susceptibilidad de las LDL a la oxidación en estos pacientes, por lo que podrían ser utilizadas para la prevención secundaria.

De todos los antioxidantes dietarios parece ser que la vitamina E, concretamente su isómero  $\alpha$ -tocoferol, es el más abundante y activo en la prevención de la modificación oxidativa (Stahl y Sies., 1997). El  $\alpha$ -tocoferol es el principal antioxidante soluble en lípidos en el plasma (Kayden y Traber, 1993) y el predominante en las LDL (Janero, 1991). En este sentido se ha observado que la suplementación oral con vitamina E aumenta la resistencia a la oxidación de las LDL *in vitro* (Princen y col., 1992; Reaven y col., 1994). Diber-Rotheneder y col. (1991) observaron que la suplementación oral con vitamina E daba lugar a un aumento de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma y en las LDL, protegiéndolas de la oxidación, mientras el contenido en  $\gamma$ -tocoferol disminuía y los carotenoides no experimentaban cambios. El enriquecimiento en  $\alpha$ -tocoferol de las LDL, tanto nativas como acetiladas, inhibe la producción de anión superóxido por parte de los monocitos (Cachia y col., 1998), y también corrige las alteraciones en el estado redox de los vasos dañados en el proceso aterosclerótico (Nunes y col., 1997). Jain y col. (1996) observaron descensos significativos en los niveles plasmáticos de productos procedentes de la peroxidación lipídica en pacientes diabéticos suplementados con 100 UI/día de vitamina E. Algunos autores destacan la importancia de la suplementación con vitamina E en algunos grupos de riesgo, concretamente los fumadores, quienes normalmente presentan mayores niveles de peroxidación lipídica, y por tanto tienen requerimientos más altos de vitamina E para proteger sus membranas del daño oxidativo (Brown y col., 1998). Inal y col. (1997) también encontraron efectiva la terapia combinada de reemplazamiento hormonal y vitamina E en la prevención de las enfermedades cardiovasculares en mujeres posmenopáusicas. Aunque Wen y col. (1997) opinan que la terapia de reemplazamiento hormonal con estrógenos/progestágenos en mujeres posmenopáusicas no altera el status de vitamina E.

La vitamina E, además de su acción antioxidante, tiene otras funciones que previenen los efectos deletéreos implicados en la patogénesis de la aterosclerosis. Chojkier y col. (1989) y Houghlum y col. (1991) atribuyen al  $\alpha$ -tocoferol un efecto doble en la síntesis y secreción del colágeno. En cultivos de fibroblastos humanos se ha observado que la peroxidación lipídica eleva marcadamente la expresión del gen colágeno, con lo que se aumenta la formación de fibras de colágeno contribuyendo así al estrechamiento de la íntima. Por lo tanto el  $\alpha$ -tocoferol al retardar el proceso oxidativo previene indirectamente la síntesis elevada de colágeno y sus consecuencias sobre el proceso aterosclerótico (Chojkier y col.,

1989). En estudios *in vitro* se ha observado que la vitamina E inhibe la captación de las LDL nativas y acetiladas por las células espumosas (Wiklund y col., 1991), y también actúa como un potente inhibidor de la adhesión plaquetar (Steiner, 1991). Algunos autores han observado que la administración oral de vitamina E, concretamente 300 mg/día de acetato de  $\alpha$ -tocoferol, mejora la vasodilatación dependiente del endotelio en pacientes con angina coronaria, disminuyendo la frecuencia de los ataques de angina (Motoyama y col., 1998). Esta acción es consecuencia de la disminución del estrés oxidativo.

Resumiendo, las funciones más importantes llevadas a cabo por la vitamina E son la protección frente al daño oxidativo, aumento de la respuesta inmune y reducción de la adhesión de las plaquetas a la pared vascular, y todas ellas se relacionan con la ingesta dietaria de esta vitamina. De este modo, Weber y col. (1997) establecen las ingestas mínimas necesarias de vitamina E para que se produzcan estos efectos beneficiosos. Y determinan que una ingesta de 40 UI/día de vitamina E es la cantidad mínima que inhibe la oxidación de las LDL, observando un efecto dosis-dependiente hasta 800 UI/día. Ingestas de al menos 60 UI/día aumentan la respuesta inmune e ingestas de 200-400 UI/día decrecen la adhesión de las plaquetas a la pared vascular.

No se debe dejar de considerar los efectos colaterales de la vitamina E. Así el grupo de Cornwell y col. (1988) describe que los productos de la peroxidación lipídica generados a partir de los ácidos grasos poliinsaturados inhiben la proliferación de las células del músculo liso, mientras que antioxidantes tales como el  $\alpha$ -tocoferol promueven esta proliferación al prevenir la peroxidación lipídica. Por lo que este grupo ha propuesto que *in vivo* puede haber un nivel óptimo de mínima oxidación de las LDL, al cual la proliferación de la células del músculo liso está inhibida y la síntesis de  $\text{PGI}_2$  aumentada.

Los tocotrienoles son antioxidantes solubles en lípidos con actividad vitamina E, y se les ha atribuido la capacidad de disminuir las concentraciones de LDL-colesterol y la agregación plaquetar en hombres. Sin embargo, Mensink y col. (1999) en un estudio en el que participaron 20 hombres con concentraciones de colesterol total en plasma entre 6,5 y 8 mmol/L, concluyeron que la administración durante 6 semanas de 4 cápsulas diarias de 35 mg de tocotrienoles + 20 mg de  $\alpha$ -tocoferol, cada una, respecto a la suplementación solo con  $\alpha$ -tocoferol, no producía mejoras significativas en el perfil lipídico y lipoproteico de estos sujetos hipercolesterolémicos. Por lo tanto se mantienen resultados contradictorios sobre las posibles acciones de los tocotrienoles.



Con respecto a los carotenos, aún no está bien establecida su relación con la aterosclerosis. Dentro de los carotenoides se engloban: luteína/zeaxantina, criptoxantinas, licopenos,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno. El  $\beta$ -caroteno es el miembro de la familia de los carotenoides que es transportado en la sangre incorporado en las partículas LDL (Krinsky y col., 1958). Tiene efectos antioxidantes a bajas presiones de oxígeno (Burton y Ingold., 1984), las cuales presumiblemente existen dentro de las paredes arteriales. Levin y col. (1997) han encontrado, en modelos animales, que de los dos isómeros del  $\beta$ -caroteno es el 9-cis  $\beta$ -caroteno el que presenta la mayor potencia antiperoxidativa por tener mayor afinidad por los radicales libres.

Se sabe que el consumo de tabaco, un conocido factor de riesgo cardiovascular, se asocia con menores niveles plasmáticos de  $\beta$ -caroteno, y las LDL de estos sujetos son más susceptibles a la oxidación *in vitro* (Harats y col., 1990; Stryker y col., 1988). Estudios *in vitro* han evidenciado que la incubación de las LDL con  $\beta$ -caroteno en cultivos de células endoteliales y musculares lisas previene la modificación oxidativa, y la capacidad de inducir la migración de los monocitos (Navab y col., 1991). Algunos estudios de intervención han demostrado que la suplementación oral con  $\beta$ -carotenos (Jialal y col., 1991; Princen y col., 1992; Jha y col., 1995; Ribaya-Mercado y col., 1995; Ziouzenkova y col., 1996) reduce ligeramente la oxidación de las LDL. Meraji y col. (1997) observaron que, en un grupo de iraníes con niveles altos de peroxidación lipídica, la suplementación con 30 mg/día de  $\beta$ -caroteno con o sin 400 UI/día de  $\alpha$ -tocoferol durante 10 semanas, reduce el nivel plasmático de malonilaldehído en estos individuos. Gaziano y col. (1990), a partir de datos del USA Physician Health Study, señalan que la suplementación con 50 mg de  $\beta$ -caroteno cada dos días a un grupo de hombres con antecedentes de cardiopatía coronaria, produce una reducción del 44% y 49% en la incidencia de los principales sucesos coronarios y vasculares respectivamente. Sin embargo no se observó que la suplementación con  $\beta$ -caroteno redujera la incidencia de enfermedad cardiovascular en sujetos sanos tras doce años de seguimiento (Hennekens y col., 1996). Aunque la mayoría de los estudios epidemiológicos relacionan las ingestas altas de carotenoides con una reducción en el riesgo cardiovascular, Rock (1997) no cree justificada la suplementación con  $\beta$ -caroteno como estrategia general en la reducción del riesgo. Del mismo modo, Reaven y col. (1993) consideran que la suplementación con  $\beta$ -caroteno es inefectiva en comparación con la de vitamina E, conclusión a la que también llegaron Nenseter y col. (1995) tras administrar suplementos de  $\beta$ -carotenos a un grupo de mujeres no fumadoras posmenopáusicas con hipercolesterolemia. Sin embargo, Klipstein y

---

198

col. (1999) en un estudio observacional de 4 años de duración realizado entre la población anciana sana (55-95 años) del estudio Rotterdam, encontraron que las ingestas altas de  $\beta$ -caroteno procedente de la dieta pueden proteger a estos sujetos del desarrollo de enfermedad cardiovascular, sin encontrar asociación entre las ingestas de vitamina C o vitamina E y el infarto de miocardio.

En cuanto a la vitamina C, antioxidante hidrosoluble "rompedor" de la cadena oxidativa, reacciona con el radical tocoferilo para generar más  $\alpha$ -tocoferol (Packer y col., 1979; Bowry y col., 1992) prolongando así su efecto protector, y además es el antioxidante más efectivo en el plasma cuando se incuba con un radical hidrosoluble (Retsky y col., 1993). Estudios *in vitro* han demostrado que la adición de ascorbato a los medios de incubación inhibe la oxidación de las LDL (Jialal y col., 1990; Harats y col., 1990; Frei., 1991). Jialal y Grundy (1991) demostraron que el ascorbato es tan efectivo como el probucol en inhibir la oxidación de las LDL inducida por cobre, y la incorporación de éstas a los macrófagos. Sin embargo, los estudios de intervención en humanos no encuentran relación entre la ingesta de vitamina C y la mejoría del riesgo cardiovascular, concretamente en el caso de diabéticos (Mayer y col., 1997; Sanchez-Lugo y col., 1997).

Recientemente otros autores han descrito un mecanismo distinto, a la acción antioxidante, por el cual la vitamina C podría disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular. Concretamente Woodhouse y col. (1997) en un estudio longitudinal sobre factores de riesgo cardiovasculares realizado en 96 voluntarios de edades entre 65-74 años, observaron que existía una relación inversa entre la actividad del PAI-1 y los niveles séricos de ascorbato, y estos a su vez se correlacionaban directamente con la ingesta de vitamina C. Por lo tanto sugieren que el consumo de vitamina C podría disminuir el riesgo de enfermedad isquémica al reducir la actividad del PAI-1. Por otro lado, Ness y col. (1997) tras una revisión de 18 estudios en los que se intentaba relacionar la ingesta de vitamina C y la presión sanguínea, concluyen que existe una asociación inversa entre estas dos variables. Estos resultados hay que considerarlos con precaución ya que en estos estudios no se controlaron adecuadamente otros factores dietarios que podrían influir en los resultados.

Por otro lado, estudios en animales (Montano y col., 1998) han demostrado que ingestas subóptimas de vitamina C se relacionan con cambios desfavorables en el metabolismo del colesterol y de las lipoproteínas. Entre estos cambios destacan: descenso de la actividad de la HMG-Co A reductasa, menor número de receptores hepáticos para las LDL, aumentos en la actividad de la ACAT, incrementos en las concentraciones plasmáticas de

triglicéridos y ésteres de colesterol, y mayores tasas de secreción hepática de VLDL, todos ellos relacionados con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular.

En general las evidencias sobre el efecto protector de la vitamina C son inconcluyentes. Algunos autores sostienen que las deficiencias en vitamina C suponen un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, mientras que otros opinan que la ingesta de vitamina C mas que limitar la progresión de la enfermedad aterosclerótica previene las manifestaciones clínicas de esta enfermedad cuando ya está establecida (Jacob., 1998).

En resumen todos los datos sugieren, aunque no prueban, que la terapia con antioxidantes podría disminuir el riesgo de aterosclerosis y de enfermedades cardiovasculares. Pero por el momento la mayoría de los autores, salvo escasas excepciones (Wascher., 1997), aconsejan no tomar medidas generales preventivas basadas en la suplementación con antioxidantes (Van de Vijver y col., 1997; Lonn y Yusuf., 1997) a la espera de más ensayos clínicos. Sin embargo, esta medida podría ser aconsejable en el caso de grupos específicos y claramente identificables dentro de la población general (Filiberti y col., 1997), como serían los obesos que normalmente presentan concentraciones bajas de  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno en plasma (Decsi y col., 1997) o los diabéticos, quienes suelen tener concentraciones plasmáticas elevadas de malonilaldehído y dienos conjugados sobre todo si además son hipertrigliceridémicos (Kajanachumpol y col., 1997).

Además, la mayoría de las evidencias apuntan a establecer como más correcta la relación entre el riesgo cardiovascular y el consumo de varios nutrientes a dosis nutricionales y en combinación, es decir a través de una dieta saludable (Hercberg., 1997; Hercberg y col., 1998). Ya que para conseguir un buen estado de salud hay que optimizar sincrónicamente el consumo de las vitaminas C, E, A y carotenoides (Gey., 1998). Y la administración de una única vitamina a altas dosis a sujetos con alto riesgo cardiovascular, por ejemplo fumadores, podría no causar efectos sustancialmente beneficiosos o incluso tener consecuencias negativas (Hercberg y col., 1998).

Por lo tanto a este respecto, la mejor recomendación es aumentar la ingesta de frutas y vegetales (Ward, 1998). Ya que un aumento en el consumo de estos productos se relaciona con incrementos paralelos en las concentraciones plasmáticas de vitamina C,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno (Zino y col., 1997).

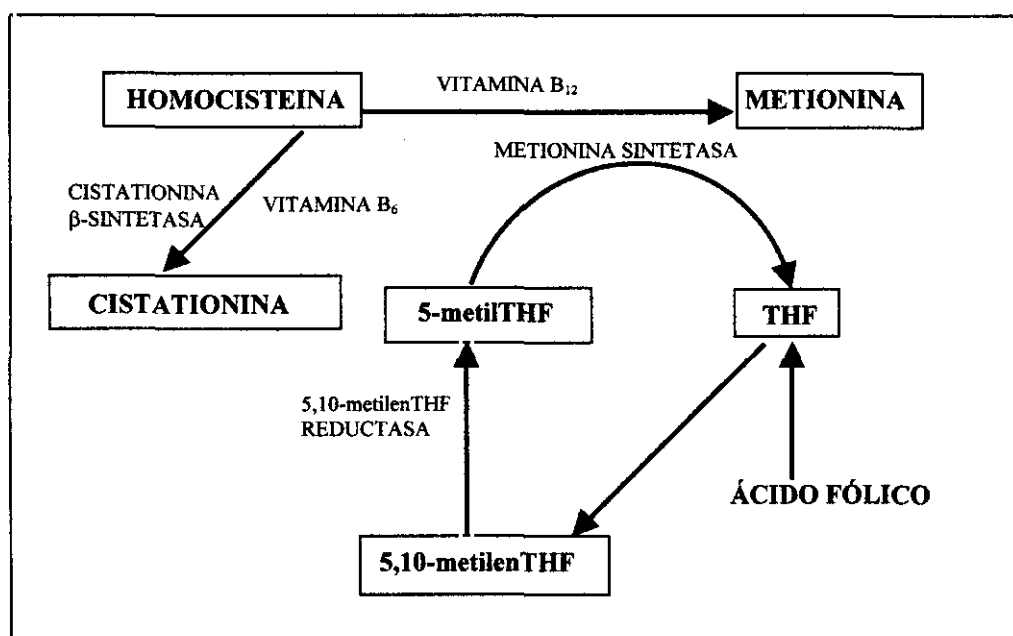
### **1.5.3. Influencia del resto de vitaminas dietarias sobre el riesgo cardiovascular**

La hiperhomocisteinemia, niveles elevados de homocisteína total, es considerado un factor prevalente y fuerte de enfermedad vascular aterosclerótica en los vasos coronarios, cerebrales y periféricos, y de tromboembolismo arterial y venoso, ya que induce cambios vasculares que afectan a las células endoteliales y del músculo liso incrementando la trombogénesis (Jacobsen., 1998). Por lo tanto la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo cardiovascular que actúa de forma independiente, pero que también se asocia con la mayoría de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular establecidos como clásicos (Refsum y col., 1998; Guba y col., 1998). Estudios casos-control han confirmado este hecho al encontrar una asociación positiva entre el riesgo de aterosclerosis coronaria severa y la homocisteína total plasmática (Verhoef y col., 1997). Además, esta asociación existe en un amplio rango de niveles de homocisteína total, sin un umbral claro por el encima del cual el riesgo no incrementa. Wautrecht. (1997) considera que un incremento de 5  $\mu\text{mol/L}$  en homocisteína elevan el riesgo vascular tanto como el aumento de 20 mg/dL en el colesterol sérico. Fenech y col. (1998) comprobaron en jóvenes adultos australianos, que la hiperhomocisteinemia no solo es un factor de riesgo cardiovascular, sino que también lo es del desarrollo de cánceres, por su acción dañina sobre los cromosomas.

La homocisteína, aminoácido azufrado, se forma a partir del aa esencial metionina, y varias vitaminas del complejo B están involucradas en su metabolismo. La piridoxina, vitamina B6, es un cofactor de la cistationina  $\beta$ -sintetasa, enzima que cataliza la transformación de homocisteína a cistationina. En una dieta normal se conserva el esqueleto carbonado, y aproximadamente el 50% de la homocisteína formada es remetilada a metionina por una serie de pasos que requieren al ácido fólico y la vitamina B<sub>12</sub> (Woodside y col., 1997), (Figura 27). Una deficiencia en alguna de estas vitaminas conduce a elevaciones modestas en los niveles de homocisteína, lo que se traduce en disminución de la función renal, ambas situaciones frecuentes en la población anciana (Welch y col., 1997). Otra causa frecuente de hiperhomocisteinemia es la deficiencia genética en cistationina  $\beta$ -sintetasa, lo cual conduce a niveles circulantes de homocisteína muy altos, que a su vez se relacionan fuertemente con la aparición de enfermedad cardiovascular precoz.

Wilcken y Wilcken (1998) comprobaron que el tratamiento con piridoxina, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> reducía significativamente la hiperhomocisteinemia de 32 pacientes con deficiencia de cistationina  $\beta$ -sintetasa, a la vez que se conseguían reducciones altamente significativas en la aparición de eventos vasculares. Rimm y col. (1998) en un estudio prospectivo en el que se incluyeron 80.082 mujeres sin historia clínica previa de enfermedad

cardiovascular, cáncer, hipercolesterolemia o diabetes, observaron que el riesgo cardiovascular se relacionaba inversamente con la ingesta folato y vitamina B<sub>6</sub>, tanto si estas vitaminas procedían de suplementos o de la dieta. Por lo que concluyeron que el consumo de folato y vitamina B<sub>6</sub> por encima de las ingestas dietarias recomendadas podría ser importante en la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular entre mujeres. En otro estudio prospectivo de 3,3 años de duración, realizado con hombres y mujeres, se encontró que la incidencia de enfermedad coronaria se asociaba positivamente con los niveles plasmáticos de homocisteína total y negativamente con el nivel de folato en plasma, pero solo para las mujeres. Sin embargo, la asociación negativa con la concentración plasmática de vitamina B<sub>6</sub> permanecía para ambos sexos (Folsom y col., 1998). Estos autores arrojan dudas sobre que el nivel de homocisteína total en plasma sea un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, y mas bien apuntan la posibilidad de que la vitamina B<sub>6</sub> sea la que ofrezca una protección independiente.



**Figura 27.** Metabolismo de la homocisteína. THF: tetrahidrofolato. Tomado de Woodside y col., 1997.

Algunos autores exponen que la baja mortalidad por enfermedad coronaria en ciertas regiones donde la dieta es rica en grasa saturada y colesterol se explicaría por el alto consumo de fruta y vegetales, los cuales además de ser ricos en vitaminas antioxidantes son una fuente importante de folato (Parodi, 1997; Swain y Clair, 1997). Woodside y col. (1998) encontraron efectiva, en individuos con concentraciones moderadamente elevadas de homocisteína ( $\geq 8,34 \mu\text{mol/L}$ ) y con alta prevalencia de enfermedad cardiovascular, la

suplementación con vitaminas del complejo B (1 mg de ácido fólico, 7,2 mg de piridoxina y 0,02 mg de cianocobalamina) con o sin suplementos añadidos de vitaminas antioxidantes.

A tenor de todos estos resultados, en la actualidad se sigue investigando si una medida tan sencilla y barata, como es la suplementación con vitaminas del complejo B, reduce eficazmente el riesgo cardiovascular.

#### **1.5.4. Influencia de otros componentes dietarios no esenciales sobre el riesgo cardiovascular**

##### ***1.5.4.1. Compuestos fenólicos***

Los compuestos de naturaleza fenólica presentes en los alimentos incluyen fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados del ácido hidroxicinámico y flavonoides (Ho, 1992). Estos compuestos se encuentran en todos los alimentos de origen vegetal, frecuentemente a concentraciones muy altas, y se consumen en cantidades por encima de 1g/día (Huang y Ferraro, 1992). Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor.

Los compuestos fenólicos son componentes dietarios no esenciales que se les ha relacionado con la inhibición del desarrollo de aterosclerosis y cáncer (Huang y Ferraro, 1992; Kinsella y col., 1993). La bioactividad de estos compuestos puede deberse a su comportamiento como antioxidantes. La presencia de estructuras conjugadas y grupos hidroxilos les permite retirar y estabilizar radicales libres (Graf, 1992; Shahidi y col., 1992), y los grupos carboxílicos presentes en su estructura les proporcionan la capacidad de quelar metales (Hudson y Lewis, 1983). Los compuestos fenólicos parecen comportarse también como inhibidores de la actividad pro-oxidante de las enzimas lipooxigenasa y ciclooxigenasa (Ho, 1992; Huang y col., 1992).

Además de la capacidad de los compuestos fenólicos de inhibir la oxidación lipídica en sistemas biológicos, también pueden inhibir las reacciones oxidativas que se producen en el procesamiento de los alimentos (Shahidi y col., 1992). Algunos estudios señalan que el aceite de oliva muestra una gran estabilidad a los procesos oxidativos debido a la presencia de unos potentes antioxidantes de naturaleza fenólica. La cantidad de estos compuestos en las aceitunas depende de varios factores, tales como el clima, cultivo y estado de maduración. Su concentración en los aceites puede oscilar entre 50-500 mg/Kg, siendo los más abundantes el

2-(3,4-dihidroxifenil)etanol (DHPE), el oleoeuropeinglucósido y el (p-hidroxifenil)etanol (Montedoro, 1992).

En numerosos modelos animales se ha comprobado la actividad anticarcinogénica de los compuestos fenólicos (Huang y Ferraro, 1992). Esta actividad es debida en parte a sus propiedades antioxidantes, pero estos compuestos también tienen la capacidad de reducir la biodisponibilidad de los carcinógenos, inhibir su activación metabólica, inhibir el metabolismo del ácido araquidónico e inhibir la actividad de la proteína kinasa C (Huang y Ferraro, 1992).

Por otra parte, a los compuestos fenólicos se les ha relacionado con la inhibición del proceso aterosclerótico. Esta asociación entre estos componentes dietarios, especialmente los polifenoles presentes en el vino tinto, y la enfermedad cardiovascular se ha establecido en segmentos de la población francesa con factores de riesgo aterogénicos tales como ingesta de grasa saturada y niveles plasmáticos de colesterol, similares a los de la población estadounidense, pero con mucha menor incidencia de enfermedad cardiovascular (Renaud y de Lorgeril, 1992). El efecto positivo del consumo moderado de vino tinto sobre la enfermedad cardiovascular puede deberse a los efectos del etanol y/o a la capacidad de los compuestos fenólicos de inhibir la oxidación lipídica (Kinsella y col., 1993). Frankel y col. (1993) y Kanner y col. (1994) encontraron que polifenoles procedentes del vino tinto inhiben la oxidación de las LDL más eficazmente que el  $\alpha$ -tocoferol. Por otra parte también hay que considerar la capacidad de los compuestos fenólicos de inhibir la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa, lo que se traduce en una reducción en la formación de tromboxano y leucotrieno respectivamente (Kinsella y col., 1993). Más recientemente, Halpern y col. (1998) encontraron un extracto procedente de la fermentación de la uva del vino tinto muy rico en polifenoles y capaz de inhibir la agregación plaquetar *in vitro*. Estos autores también consideran posible un efecto sinérgico entre los polifenoles y la vitamina C. Ambos producen vasorelajación y previenen de esta forma el envejecimiento prematuro de los tejidos. Todas estas acciones pueden explicar los efectos positivos de los polifenoles sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

Entre los compuestos fenólicos presentes en el vino tinto capaces de inhibir las reacciones de oxidación se incluyen las catequinas, flavonoides y taninos. Todos ellos también están presentes en una gran variedad de frutas y vegetales, por lo que pueden ser parcialmente responsables de los efectos positivos del consumo de estos alimentos sobre la enfermedad cardiovascular.

El aceite de oliva es otro componente dietario rico en compuesto fenólicos. A este respecto, Petroni y col. (1994) investigaron si el DHPE, un fenol muy abundante en las aceitunas, afecta a la función plaquetar *in vitro* y a la producción de eicosanoides, productos oxigenados del metabolismo del ácido araquidónico, los cuales se generan a través de la formación del lipoperóxido intermedio. Específicamente, estos investigadores evaluaron *in vitro* los efectos del DHPE sobre la agregación inducida por el colágeno y la formación en plasma rico en plaquetas del TXB<sub>2</sub>, y sobre la acumulación del TXB<sub>2</sub> y el 12-HETE, un producto mayoritario del ácido araquidónico vía lipooxigenasa en suero, después de la preincubación de las plaquetas o sangre respectivamente con el compuesto. Los datos del estudio indicaron que el DHPE tiene una actividad antiagregante plaquetar y reduce la síntesis de ambos productos de la vía lipooxigenasa. Por otra parte Agradi y col. (1981) demostraron que el antioxidante natural más importante, la vitamina E, no tiene efecto sobre la agregación plaquetar, incluso a la concentración de  $10^{-3}$  M y con tiempos más largos de incubación. También describieron que a pesar de que la aspirina es más potente que el DHPE con un IC<sub>50</sub> sobre la agregación inducida por el colágeno en un plasma rico en plaquetas, del orden de  $10^{-5}$  M, no tiene efecto sobre los metabolitos de la lipooxigenasa.

Así los efectos combinados del compuesto antioxidante DHPE y otros compuestos fenólicos de las aceitunas sobre las plaquetas y sobre la peroxidación lipídica podrían contribuir a los efectos favorables atribuidos al aceite de oliva, como parte de la dieta mediterránea en la prevención de la enfermedad cardiovascular.

En un reciente trabajo (Wiseman y col., 1996) también señalan que otros antioxidantes dietarios distintos a la vitamina E pueden estar implicados en impedir la oxidación de las LDL. Estos investigadores administraron a conejos dietas iguales pero en las que se incorporaban grasas dietarias distintas, aceite de oliva refinado, aceite de oliva virgen o bien girasol alto oleico. Solamente en el aceite de oliva virgen se pudieron detectar los compuestos polifenólicos hidroxitirosol y p-tirosol. La concentración de vitamina E fue igualada en todas las dietas. Después de 6 semanas de administración de las dietas se demostró que los compuestos polifenólicos, los cuales sólo están presentes en el aceite de oliva virgen, eran los responsables de la capacidad antioxidante endógena de la LDL, lo cual se comprobó por el incremento de la resistencia a la oxidación *in vitro* de las LDL correspondientes al periodo dietario con aceite de oliva virgen.

A pesar del gran número de evidencias que apoyan la hipótesis del importante papel antioxidante de los compuestos fenólicos, algunos investigadores indican que estas sustancias pueden actuar simultáneamente como antioxidantes y prooxidantes (Morgan y col., 1997), y



como anticarcinogénicos y carcinogénicos (Hirose y col., 1992). Por lo que recomendar un consumo incrementado de estos compuestos fenólicos podría no ser prudente hasta que su bioactividad no sea mejor entendida (Eric y Decker, 1997).

#### 1.5.4.2. Esteroles

Los esteroides de las plantas, fitoesteroides, son compuestos estructuralmente análogos al colesterol, pero difieren en la configuración de su cadena lateral o grupos polares, por lo que compiten con el colesterol impidiendo la captación de éste por los receptores específicos. Los esteroides vegetales más abundantes son los sitosteroides. Según Heinemann y col. (1991) el mecanismo por el cual los sitosteroides ejercen su efecto podría ser el desplazamiento del colesterol de su unión micelar, lo cual se traduciría en una disminución de la absorción intestinal del colesterol o bien en un incremento de su excreción biliar. Según Pérez-Jiménez y col. (1995) cada mg de sitosterol añadido a la dieta impediría la absorción de un mg de colesterol. Todo esto explicaría, según estos autores, las concentraciones significativas y más elevadas de colesterol y LDL-colesterol en plasma cuando se consumen dietas que contienen aceite de oliva frente a las que contienen girasol con alto contenido en ácido oleico, dado que las diferencias no pueden ser debidas a la composición de ácidos grasos, ya que son prácticamente iguales en ambos aceites.

Field y col. (1997) estudiaron a nivel celular los efectos de los fitoesteroides sobre el metabolismo del colesterol y sobre la secreción de apo B. Para ello usaron células CaCo-2 incubadas con micelas que contenían colesterol (5mM taurocolato y 250  $\mu$ M ácido oleico). Observaron que cuando se incluía  $\beta$ -sitosterol a las micelas, se reducía el flujo de colesterol de la membrana al retículo endoplásmico, al igual que la secreción de ésteres de colesterol derivados de la membrana plasmática. Además el  $\beta$ -sitosterol reducía la síntesis de colesterol y la actividad de la HMG CoA reductasa, sin alterar la síntesis de ésteres de colesterol ni la actividad de la ACAT, y sin mostrar efecto sobre la secreción de apo B. Los efectos de otros fitoesteroides, el estigmasterol y el campesterol, eran similares a los del  $\beta$ -sitosterol, salvo que el campesterol aumentó la actividad ACAT.

Algunos estudios de intervención examinan el efecto del consumo de fitoesteroides sobre el perfil lipídico. En este sentido, Jones y col. (1998) evaluaron la capacidad a corto plazo, del consumo de fitoesteroides procedentes de aceites con alto contenido en sitosterol, para reducir los niveles de colesterol en plasma. Estos autores observaron descensos

significativos en las concentraciones plasmáticas de colesterol total y LDL-colesterol tras el tratamiento con fitoesteroles. Sin apreciar cambios en los niveles de colesterol asociados a las HDL, ni en los valores de triglicéridos sanguíneos. Por lo tanto estos investigadores demuestran la eficacia a corto plazo de los fitoesteroles obtenidos de la fracción insaponificable de los aceites como agentes reductores del colesterol plasmático. Otros estudios realizados en sujetos normocolesterolémicos y moderadamente hipercolesterolémicos (Jones y Ntanios, 1998; Weststrate y Meijer, 1998) en los que se utilizan margarinas enriquecidas con diferentes esteroides, principalmente sitosterol, campesterol y estigmasterol, procedentes de aceites vegetales confirman estos resultados. Gylling y col. (1997) observaron que el uso dietario de margarina enriquecida en ésteres de sitostanol normalizaba los niveles séricos de LDL-colesterol en la tercera parte de la población estudiada, que en este caso se trataba de mujeres posmenopáusicas con antecedentes de infarto de miocardio. Incluso esta medida en combinación con terapia farmacológica a base de estatinas reducía la dosis necesaria de estos fármacos.

Hay varios estudios que evalúan la influencia de los fitoesteroides en la acción diferencial sobre el metabolismo lipídico de distintos aceites. Howell y col. (1998) estudiaron los efectos sobre el perfil lipídico del consumo durante 10 días de tres dietas en 16 sujetos normolipémicos. Los periodos dietarios se diferenciaban en el tipo de aceite. Uno contenía aceite de maíz, rico en ácidos grasos poliinsaturados y en fitoesteroides, otro aceite de oliva, rico en ácidos grasos monoinsaturados y con bajo contenido en fitoesteroides, y el tercero contenía aceite de oliva suplementado con fitoesteroides hasta alcanzar el nivel encontrado de forma natural en el aceite de maíz. Estos autores encontraron que las concentraciones plasmáticas de colesterol total después de las dietas con aceite de oliva y aceite de oliva suplementado eran significativamente más altas que las correspondientes a la dieta de aceite de maíz. También observaron que la suplementación con fitoesteroides en la dieta de aceite de oliva supuso la desaparición de las diferencias significativas en las concentraciones de LDL-colesterol y triglicéridos encontradas entre las dietas de aceite de maíz y de oliva. A tenor de estos resultados es lógico pensar que los fitoesteroides son parcialmente responsables de los efectos de los distintos aceites dietarios sobre el perfil lipídico.

Otros estudios que comparan dietas ricas en aceite de oliva con dietas ricas en girasol alto oleico sugieren que las diferencias entre estos dos aceites son debidas a componentes diferentes de los ácidos grasos, como los esteroides, algunos de los cuales como los  $\beta$ -sitosteroides y otros fitoesteroides compiten en la absorción del colesterol y están en distinta proporción en los dos aceites (Pérez-Jiménez y col., 1995). Según estos autores existen unas

diferencias relevantes en la concentración de esteroides vegetales en estos dos aceites. Así, en el girasol alto oleico que estudiaron había 2,3 veces más esteroides que en el aceite de oliva virgen. También se ha señalado como importante el contenido de ciertos precursores de colesterol como el escualeno, siendo hasta 17 veces mayor la cantidad de este compuesto en el aceite de oliva virgen con respecto al girasol alto oleico (Pérez-Jiménez y col., 1995). El escualeno sin embargo es un precursor del colesterol.

Por último destacamos otra acción atribuida a los fitoesteroides como posibles protectores en la carcinogénesis. Mendilaharsu y col. (1998) observaron en un estudio caso-control que la ingesta total de fitoesteroides se asociaba con una reducción en el riesgo de padecer cáncer de pulmón del 50%.

## 2. OBJETIVOS E INTERÉS DEL TRABAJO

El estudio de los factores de riesgo cardiovascular en poblaciones posmenopáusicas tiene actualmente un gran interés científico dada la modificación que se ha producido en las últimas décadas en la pirámide poblacional, debido al envejecimiento de la población en los países civilizados y en particular en España. Además las personas de edad avanzada presentan peculiaridades en el comportamiento alimentario, que pueden afectar a su *status nutricional* y por tanto a su estado de salud y expectativa de vida (Oubiña, 1998). La hipótesis de que la dieta puede modular la concentración plasmática de lípidos y lipoproteínas, la peroxidación lipoproteica, y por tanto modificar la morbilidad y mortalidad debida a las enfermedades cardiovasculares, ha generado muchas investigaciones.

La sustitución creciente del aceite de oliva por otros aceites de escaso consumo en España hace unos años ha despertado la preocupación en ciertos círculos dada su posible relación con el incremento de la mortalidad cardiovascular.

Por ello los objetivos que se plantean cubrir en esta Tesis Doctoral son los siguientes:

- 1.- Estudiar los hábitos nutricionales de un colectivo de mujeres posmenopáusicas con un sistema de vida bien establecido.
- 2.- Comparar en dicha población los efectos sobre la concentración de lípidos, lipoproteínas, peroxidación lipídica y concentración de vitaminas del consumo de dietas preparadas con diferentes aceites.
- 3.- Estudiar si los efectos producidos por los cambios dietéticos sobre el metabolismo lipoproteico y vitamínico dependen a su vez de la colesterolemia basal de dichas mujeres.

Para abordar el **primer objetivo** se seleccionó una comunidad de religiosas por considerar que se trata de un grupo de población muy homogénea en cuanto a actividad física, status socio-cultural y hábitos alimentarios. En ella se estudiaron: (i) los hábitos alimentarios con especial análisis de las raciones, frecuencia de consumo y métodos culinarios empleados; (ii) se definió la adecuación de la dieta a las recomendaciones nutricionales para conocer el status nutricional de dicha población y si fuese necesario poner en marcha medidas correctoras.

Respecto al **segundo objetivo** se sustituyó el aceite culinario utilizado habitualmente por las religiosas (mezcla a partes iguales de aceite de oliva y aceite de girasol) por aceite de oliva virgen "extra" y éste por aceite de girasol alto oleico, manteniéndose constante el resto

de los alimentos de su dieta. Se evaluó (i) la modificación producida en el perfil de ácidos grasos de la dieta así como el aporte de componentes minoritarios y vitaminas con presunto efecto antioxidante.; (ii) los cambios en la lipemia, lipoproteinemia, composición porcentual y tamaño de las lipoproteínas, grado de peroxidación sérica y lipoproteica, y concentración plasmática de vitaminas.

En cuanto **al tercer objetivo** se valoró la conjunción del nivel de colesterol plasmático con el cambio dietético sobre los parámetros reseñados en el segundo objetivo.

Con los datos obtenidos se pretende indicar aspectos importantes sobre la recomendación de modificar o no los hábitos alimentarios de este grupo de población y por extensión de otros colectivos de mujeres posmenopáusicas y de ancianos, con el fin de disminuir la prevalencia de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular incrementado así la calidad y expectativa de vida en estos grupos de población.

Pensamos que la consecución de estos objetivos justifican el planteamiento, realización y presentación de esta memoria de Tesis Doctoral.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. TOMA DE MUESTRA**

##### **3.1.1. Elección del centro**

El presente estudio se ha realizado en el convento de las Carmelitas Descalzas perteneciente a la localidad de Lerma (Burgos). Este centro se eligió por sus características como convento de clausura, en el que todos sus miembros tienen un estilo de vida uniforme y estable, así como unos hábitos dietarios también homogéneos sujetos al consumo de un mismo menú.

##### **3.1.2. Elección de la muestra**

Las participantes, que se ofrecieron voluntaria y desinteresadamente a colaborar en este proyecto de investigación, fueron quince mujeres de esta comunidad. En todo momento se respetaron criterios de ética siguiendo los acuerdos de la Declaración de Helsinki (1992). A todas ellas se les hizo un estudio anamnésico completo, obteniéndose datos de edad, enfermedades que pudieran padecer, y antecedentes familiares de enfermedad y tratamientos farmacológicos. De las quince mujeres, una de ellas se separó del estudio por apartarse mucho de la edad media y ser premenopáusica. Se seleccionó por tanto un grupo de catorce mujeres sanas posmenopáusicas, con edades comprendidas entre 45 y 76 años, con un valor medio de  $62,9 \pm 11,2$ . Las características antropométricas de la población se resumen en la Tabla 1 del apartado Exposición de Resultados. La talla media fue de  $153 \pm 7,0$  cm y el valor medio de su peso  $54,3 \pm 9,3$  kg. Ninguna de ellas tomó medicación alguna durante el estudio que pudiera afectar al metabolismo lipoproteico.

Las actividades que desarrollaba dicha población en un periodo de 24 horas y el tiempo destinado a cada una de ellas se indica en el Cuadro 19.

Antes de comenzar el estudio se evaluaron las necesidades energéticas para cada miembro de la población, teniendo en cuenta: a) el gasto metabólico basal (GMB), b) el gasto para la actividad física que realizaban (GAF) y c) el efecto termogénico de los alimentos (ETA). A partir de estos tres cálculos se obtuvo un gasto energético medio total de  $1793,16 \pm$

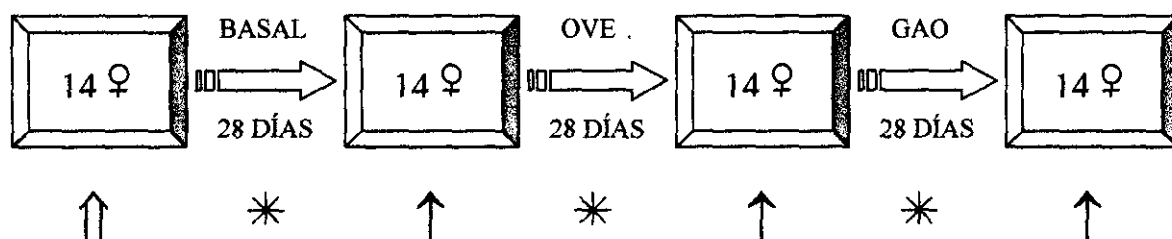
252,37 kcal/día siendo el GMB de  $1239,29 \pm 163,05$  kcal/día.

ACTIVIDAD	TIEMPO
Dormir	6 h 45 m
Aseo	30 m
Oración	7 h 25 m
Trabajo*	4 h 55 m
Comida	1 h 10 m
Recreación	2 h
Tiempo libre	1 h
Bendición	15 m

**Cuadro 19.** Actividades desarrolladas en 24 horas.\*Los trabajos que realizaban eran: huerta, enfermería, gallinero, órgano, cocina, costurera de ropa blanca, costurera de ropa negra, tendadero, sacristía, provisor y tornó, y portería.

### 3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el siguiente esquema se muestran las diferentes fases del estudio y las muestras que se obtuvieron a lo largo del mismo.



↑↑ Estudio anamnéstico y de hábitos alimentarios

\* Estudio dietético: pesada precisa, 28 días

↑ Toma de muestra

BASAL: una mezcla a partes iguales de aceite de oliva y aceite de girasol

OVE: aceite de oliva virgen "extra"

GAO: aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico

<b>plasma:</b>	(z)- $\beta$ -caroteno cryptoxantina lycopeno vitamina A: retinol vitamina E: $\alpha$ -tocoferol $\alpha$ -caroteno vitamina C: ácido ascórbico $\beta$ -caroteno total (all-E)- $\beta$ -caroteno $\gamma$ -tocoferol tocoferol/colesterol	<b>suero:</b>	colesterol total triglicéridos fosfolípidos apolipoproteína AI apolipoproteína AII apolipoproteína B peroxidación lipídica
<b>LDL:</b>	colesterol total triglicéridos fosfolípidos apolipoproteína B peroxidación lipídica proteínas totales resto de proteínas lípidos totales proteínas + lípidos	<b>HDL:</b>	colesterol total triglicéridos fosfolípidos apolipoproteína AI apolipoproteína AII proteínas totales resto de proteínas lípidos totales proteínas + lípidos
<b>VLDL:</b>	colesterol total triglicéridos fosfolípidos apolipoproteína B proteínas totales resto de proteínas lípidos totales proteínas + lípidos	<b>Lp(a):</b>	colesterol total triglicéridos fosfolípidos apolipoproteína B proteínas totales resto de proteínas lípidos totales proteínas + lípidos

### 3.3. ESTUDIO DE LA DIETA

#### 3.3.1. Recogida de datos

La dieta seguida por la comunidad en cada periodo dietario (Esquema experimental), fue medida durante 4 semanas usando el método de "pesada precisa" (Marr, 1971). Todos los ingredientes usados en la preparación de los platos fueron pesados, al igual que la porción no comestible. El peso de la porción individual ingerida del alimento una vez cocinado (teniendo en cuenta la parte no consumida) fue también registrada por dos investigadores presentes diariamente en la cocina de la comunidad durante la preparación de las comidas.



En cuanto a la ingesta de energía y nutrientes, fue calculada usando las tablas de composición de alimentos. Los menús se cambiaron diariamente, repitiéndose aproximadamente cada dos semanas.

#### 3.3.2. Descripción de la dieta

En este apartado analizaremos el menú del colectivo, así como la frecuencia en el consumo de los diferentes alimentos, su cantidad y forma de cocinado. Un capítulo importante es el que define las características de los aceites utilizados en este estudio: aceite de oliva refinado y girasol convencional, aceite de oliva virgen “extra” y aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico.

##### 3.3.2.1. Menú tipo

Se presenta en el Cuadro 20 un menú tipo obtenido después de elegir al azar tres menús correspondientes a un día de cada mes. En ellos se representan la distribución en tres comidas: desayuno, comida y cena, así como las cantidades consumidas de algunos alimentos como son la leche y el pan.

21 de OCTUBRE		
<b>DESAYUNO</b>	- Leche entera (174 ml)	- Pan (40g)
	- Café*	
<b>COMIDA</b>	- Ensalada de pepino y tomate	- Manzana
	- Judías verdes con cebolla, ajo y zanahoria	- Pan (40g)
	- Pescado rebozado con patatas fritas	- Café* con leche
<b>CENA</b>	- Patatas hervidas aliñadas con aceite	- Pan (40g)
	- Manzana	- Café* con leche
28 de NOVIEMBRE		
<b>DESAYUNO</b>	- Leche entera (174 ml)	- Pan (40g)
	- Café*	

<b>COMIDA</b>	- Ensalada de pepino y tomate	- Pera
	- Macarrones con espinacas	- Pan (40g)
	- Huevos cocidos con bechamel y calabaza	- Café* con leche
<b>CENA</b>	- Sopa de fideos	- Pan (40g)
	- Tortilla francesa	- Café* con leche
	- Pera	

**2 de DICIEMBRE**

<b>DESAYUNO</b>	- Leche entera (174 ml)	- Pan (40g)
	- Café*	
<b>COMIDA</b>	- Ensalada de pepino y tomate	- Pera
	- Puré de patatas	- Pan (40g)
	- Revuelto de calabaza	- Café* con leche
<b>CENA</b>	- Repollo	- Pan (40g)
	- Pera	- Café* con leche

**Cuadro 20.** Menú tipo en la población objeto de estudio durante tres meses diferentes. \*Líquido percolado procedente de posos de café.

### 3.3.2.2. Frecuencia y cantidad de alimentos

La ingesta regular de frutas, verduras frescas, pan y leche entera fue diaria. No consumieron carne ni derivados y tampoco bebidas alcohólicas.

Se estudió la frecuencia mensual de consumo de cada grupo de alimentos (Figura 28) y de cada alimento en particular (Tabla 3 de Exposición de Resultados), así como su ingesta diaria (Tabla 4 de Exposición de Resultados). Los alimentos se agruparon en diez de los trece grupos que componen las *Tablas de Composición de los Alimentos* (Moreiras y col., 1992) y que fueron:

Grupo 1: Cereales y derivados

Grupo 2: Leche

Grupo 3: Huevos

Grupo 4: Azúcares

Grupo 5: Aceites

Grupo 6: Verduras y hortalizas

Grupo 7: Leguminosas

Grupo 8: Frutas

Grupo 10: Pescados y derivados

Grupo 12: Chocolates

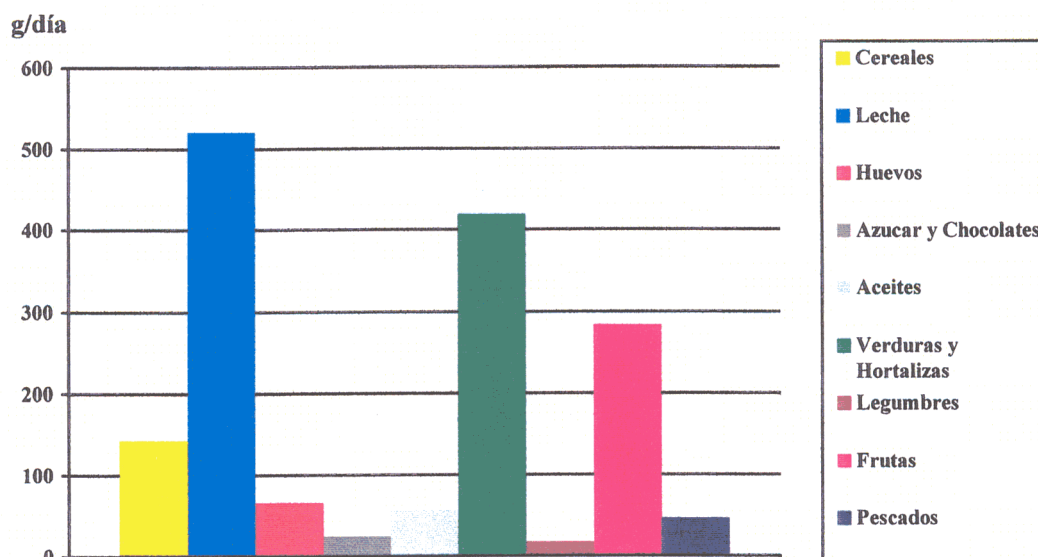


Figura 28 . Ingesta de los distintos grupos de alimentos.

Como se puede observar en la Figura 28, en la que las cantidades de alimentos se representan en g/día, la leche, hortalizas y verduras, y las frutas fueron los alimentos de mayor consumo. La ingesta de huevos con una frecuencia de 5 a 6 veces por semana también fue importante.

### 3.3.2.3. Aceites utilizados en el estudio

Respecto al aceite utilizado en cada período dietario: oliva virgen “extra” y girasol alto oleico, en las Tablas 5 y 6 de Exposición de Resultados se representan respectivamente la composición en ácidos grasos y el contenido en algunos componentes minoritarios.

Este colectivo utiliza habitualmente como grasa culinaria una mezcla a partes iguales de oliva refinado y girasol convencional, que es precisamente el aceite utilizado en el período que denominamos basal y cuya composición media también está reflejada en las Tablas 5 y 6 de Exposición de Resultados.

En la Tabla 6 de Exposición de Resultados se muestran los componentes minoritarios de los aceites utilizados en los periodos dietarios. La determinación de polifenoles se realizó por el método de Folin-Ciocalteu (Singuelton y Rossi, 1965). La de tocoferoles mediante HPLC en fase reversa (Hess y col., 1991) y la de escualeno y otros componentes del

insaponificable por cromatografía gaseosa con columna capilar (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1991).

#### 3.3.2.4. *Métodos culinarios*

Los métodos culinarios empleados en la elaboración de los menús se representan en la Figura 29. Fueron cocción (51% de los casos), fritura (17%) y plancha (16%), mientras que un 16% de los alimentos se consumieron sin ningún tratamiento culinario.

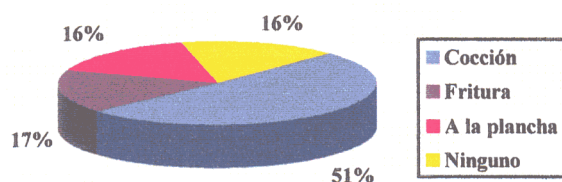


Figura 29 . Métodos culinarios empleados en la elaboración de los menús.

### 3.4. MÉTODOS

#### 3.4.1. Medidas antropométricas

Antes de comenzar el estudio todas las participantes fueron pesadas con una báscula clínica, y medidas con ayuda de un estadiómetro deslizando la pieza horizontal del instrumento hasta la zona superior de la cabeza.

#### 3.4.2. Cálculo del gasto energético

El gasto calórico de la población a estudio se calculó por el *Método factorial* recomendado por la FAO, y en el que se deben evaluar tres factores para poder determinar el gasto energético total (GE). Estos tres factores son:

- Gasto metabólico basal (GMB)
- Gasto por actividad física (GAF)
- Efecto termogénico de los alimentos (ETA)

La suma de estos tres factores nos indica el gasto energético total:

$$GE = GMB + GAF + ETA$$

También se puede calcular el GE a partir del GMB multiplicándolo por el factor que recomienda la OMS y que aparece en el cuadro adjunto. Este factor se refiere a la actividad física.

	<i>Ligera</i>	<i>Moderada</i>	<i>Alta</i>
Mujeres	1,56	1,64	1,82

Fuente: FAO/WHO/ONU (1985)

Debido a la actividad desarrollada por los diferentes miembros del colectivo, se consideró un coeficiente de 1,56.

#### 3.4.2.1. Gasto metabólico basal (GMB)

El GMB para cada miembro del colectivo se calculó utilizando distintas ecuaciones (Buskirk y Méndez, 1980; OMS, 1985):

- Ecuación de Harris-Benedict:

$$GMB = 66,473 + 13,751 \times P + 5,0033 \times L - 6,7550 \times A$$

(*P*: peso en kg; *L*: talla en cm; *A*: edad en años)

Dado que se trata de un colectivo de mujeres, para el cálculo del GMB se le resta un 10 %.

- Ecuación de Brody-Klieber:

$$GMB = 70 \times P^{0,75}$$

(*P*: peso en kg)

- Ecuación de Klieber modificada:

$$GMB = 71,2 \times P^{0,75} \times \left[ 1 + 0,004 \times (30 - A) + 0,010 \left( \frac{L}{P^{0,33}} - 42,1 \right) \right]$$

(P: peso en kg; L: talla en cm; A: edad en años)

- Ecuación de Grande-Keys:

$$GMB = 1,3 \text{ kcal / kg peso / hora}$$

Considerándose el peso corporal exento de grasa (en hombres un 15% y en mujeres un 20% del peso corporal total).

- Cálculo por estimación rápida:

$$GMB = 1 \text{ kcal / kg peso / hora}$$

- Ecuación FAO/WHO/ONU: Las necesidades individuales de energía se estiman a partir del gasto metabólico basal (GMB) empleando las ecuaciones propuestas por la OMS (1985) que se muestran en la tabla siguiente:

Sexo y edad (años)	Ecuación para calcular la TMB (kcal/día)
<i>Mujeres</i>	
30-60	$(8,7 \times P) + 829$
+60	$(10,5 \times P) + 596$

Fuente: FAO/WHO/ONU (1985)

Una vez aplicadas las diferentes fórmulas y obtenidos los valores correspondientes al GMB se procedió a calcular el valor medio del mismo.

#### 3.4.2.2. Gasto por actividad física (GAF)

El GAF fue evaluado teniendo en cuenta todas las actividades realizadas durante las 24 horas de un día por cada miembro de la población y consultando en las tablas de Buskirk y Méndez (1980) el gasto energético para cada actividad.

#### **3.4.2.3. Efecto termogénico de los alimentos (ETA)**

El ETA se calculó en función de la dieta media del colectivo y se obtiene mediante la fórmula de Crist y col. (1980): sumando el 5% de las kcal procedentes de los hidratos de carbono, el 20% de las kcal procedentes de las proteínas y el 3% de las kcal procedentes de las grasas.

#### **3.4.3. Recogida y tratamiento de muestras**

Al final de cada dieta se les extrajo sangre en ayunas por punción venosa. Una alícuota de la misma se recogió en un tubo sin anticoagulante para la posterior separación del suero que se utilizará en las determinaciones bioquímicas; otra alícuota se recogió en un tubo con EDTA dipotásico para el posterior recuento de células sanguíneas y para otras determinaciones hemáticas.

Todas las muestras fueron refrigeradas inmediatamente después de su recolección, y la sangre coagulada fue centrifugada lo antes posible a 1500xg y a una temperatura de 4 °C durante 30 minutos para obtener el suero, que se conservó en alícuotas a -20 °C.

#### **3.4.4. Determinaciones analíticas**

##### **3.4.4.1. *Determinación de ácidos grasos en los aceites***

**Principio:** El fundamento de esta técnica es la saponificación con hidróxido sódico de los glicéridos, y la liberación y esterificación de los ácidos grasos mediante una solución de trifluoruro de boro en metanol (14%) siguiendo el método IUPAC (1987).

**Reactivos:** Cloroformo (Symta); Metanol (Panreac); Hexano (Symta); Hidróxido sódico (Panreac); Cloruro sódico (Panreac); Benceno (Panreac); Trifluoruro de boro al 14% en metanol (Merck); Sulfato sódico anhidro (Panreac); Nitrógeno (S.E.O.); Patrones de

ácidos grasos: mirístico, pentadecanoico, palmítico, margárico, margaroleico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, araquídico, *cis*-11-eicosenoico, behénico, erúcico y lignocérico (Sigma).

Material: Matraz aforado 10 mL (Pyrex); Tubo de ensayo con tapón de rosca 10 mL (Pyrex); Agitador de tubos (Heildoph Reax 2000); Baño termostatzado; Jeringa 5µL (Hamilton).

Método:

*Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.*

En un matraz aforado de 10 mL se pesaron aproximadamente 100 mg de aceite y se disolvieron en 10 mL de cloroformo. Se tomaron 100 µL de esta disolución y se introdujeron en un tubo pirex de 10 mL de capacidad con tapón de rosca provisto de una pieza de teflón en su interior para permitir la condensación del disolvente. El cloroformo se evaporó introduciendo el tubo en un baño de agua a 40 °C y bajo corriente de nitrógeno.

Una vez eliminado el disolvente se añadieron 500 µL de una solución de hidróxido sódico 0,5 N en metanol y se calentó a 60 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se adicionaron 200 µL de benceno y 400 µL de una solución al 14% de trifluoruro de boro en metanol y se calentó la muestra a 90 °C durante 60 minutos. A continuación se dejó enfriar el tubo a temperatura ambiente y se añadieron 5 mL de solución sobresaturada de cloruro sódico, para facilitar la separación de la capa hexánica conteniendo los ésteres metílicos.

La extracción de los ésteres metílicos se realizó con 2 mL de hexano repitiendo la operación tres veces. La muestra se deshidrató añadiendo una punta de espátula de sulfato sódico anhidro. El hexano se evaporó en baño de agua a 40 °C bajo corriente de nitrógeno. Posteriormente, las muestras se redisolviéron en 300 µL de hexano para su posterior análisis mediante cromatografía gaseosa.

*Análisis de los ésteres metílicos mediante cromatografía gaseosa.*

La cromatografía de gases es una técnica de separación basada en la distinta velocidad de migración de cada uno de los componentes de una muestra compleja, en estado gaseoso, a



lo largo de un medio estacionario formado por una columna cromatográfica por la que pasa un gas portador inerte. Mediante un detector de ionización de llama, dispuesto al final de la columna, se evaluó la concentración de moléculas de los distintos componentes frente al tiempo obteniéndose un cromatograma.

#### Procedimiento operativo.

##### - Sistema cromatográfico:

- Cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard 5890 Series II) Palo Alto, California).
- Detector de ionización de llama.
- Sistema de inyección.
- Columna capilar 50 m de longitud y 0,22 mm de diámetro interno siendo su fase estacionaria BPX70 y 0,25  $\mu\text{m}$  de espesor (SGE, Austin, Texas).
- Integrador de Áreas (Hewlett-Packard 5890 Series II) (Palo Alto, California).
- Unidad controladora (7673 Hewlett-Packard).

La temperatura del horno se programó inicialmente a 170 °C durante 17 minutos. A continuación, se realizó una rampa rápida de temperatura hasta 220 °C a razón de 30 °C por minuto, y luego otra hasta 240 °C, a razón de 4 °C por minuto, permaneciendo en la temperatura máxima durante 5 minutos. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 250 °C y 280 °C respectivamente.

Los volúmenes de muestra inyectados fueron de 1  $\mu\text{L}$ , siendo el gas portador helio a un flujo de 30 mL/min y el auxiliar nitrógeno 15 mL/min. Los flujos utilizados para el hidrógeno y el aire fueron de 30 mL/min y 300 mL/min, respectivamente. Se utilizó una relación de "split" 4/1. La presión en cabeza de columna fue de 26 psi.

El tiempo de análisis fue aproximadamente de 30 minutos. Las áreas de los picos se calcularon con la ayuda de un integrador Hewlett-Packard 3396 Series II. La identificación de los picos se realizó atendiendo al tiempo de retención relativo y absoluto de patrones conocidos (Sigma). Para la identificación del ácido elaidico ( $t_{18:1\omega 9}$ ), del ácido vaccénico ( $c_{18:1\omega 7}$ ) y de los isómeros geométricos del ácido linoleico ( $18:2,\Delta c9,t_{12}$  y  $18:2,\Delta t9,c_{12}$ ) se tuvieron en cuenta los tiempos de retención descritos por Ratnayake y Pelletier (1992).

La composición porcentual se basa en el principio de que los pesos de cada uno de los componentes en la mezcla son proporcionales a las áreas comprendidas dentro de los triángulos de cada pico, así se permite obtener los porcentajes de cada ácido graso respecto al total de los mismos en la muestra. El contenido de cada ácido en la muestra viene dado por la expresión:

$$\%AG = 100 \times \left( \frac{\text{Área del pico del AG}}{\text{Suma de áreas de los picos}} \right)$$

#### **3.4.4.2. Determinación de componentes minoritarios de los aceites**

##### **3.4.4.2.1. Determinación de polifenoles**

Los polifenoles se determinaron según el método de Folin-Ciocalteu (Singelton y Rossi, 1965).

**Principio:** Este método se refiere a una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico, que se reduce, por oxidación de los fenoles, a una mezcla de óxidos azules de tungsteno y molibdeno.

La coloración azul obtenida presenta su máxima absorción aproximadamente a 70 nm y es proporcional a las tasas de compuestos fenólicos.

**Reactivos:** Reactivo de Folin-Ciocalteu (Merk), carbonato sódico al 20% y agua destilada.

**Procedimiento:** Se diluye con agua una alícuota del insaponificable, se añaden 0,5 mL de reactivo y 1 mL de carbonato sódico y se completa con 5 mL agua destilada. Se colocan las muestras en la oscuridad y se espera 30 minutos realizándose las mediciones posteriormente.

##### **3.4.4.2.2. Determinación de la composición y el contenido de esteroides**

Esta determinación se llevó a cabo por KOIPE S.A. según marca El Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1991) como método para la determinación del contenido de esteroides en las materias grasas, expresado como contenido de cada uno de los esteroides analizados y como contenido de cada uno de los esteroides por separado.

Principio: Se basa en la saponificación de la materia grasa, a la que se habrá añadido  $\alpha$ -colestanol como patrón interno, con una solución etanólica de hidróxido potásico. A continuación se extrae el insaponificable con éter etílico.

Posteriormente se procede a la separación de la fracción de esteroides del insaponificable mediante cromatografía en capa fina de gel de sílice previamente tratada con una solución básica. Los esteroides recuperados del gel de sílice se transforman en trimetilsililéteres y se analizan mediante cromatografía de gases con columna capilar.

Material: Matraz de 250 mL provisto de refrigerante de reflujo con juntas esmeriladas; embudos de separación de 500 mL; matraces de 250 mL; microjeringa de 100  $\mu$ L y 500  $\mu$ L; embudo cilíndrico filtrante con filtro poroso G3 (porosidad 15-40  $\mu$ m), de 2 cm de diámetro y 5 cm de altura, aproximadamente, con un dispositivo adecuado para la filtración en vacío y una junta esmerilada macho 12/21; matraz cónico para vacío de 50 mL, con junta esmerilada hembra 12/21 acoplable al embudo filtrante anterior; probeta de 10 mL de fondo cónico con tapón hermético.

Reactivos: Solución etanólica 2 N de hidróxido potásico, éter etílico, sulfato sódico anhidro, placas de vidrio recubiertas de sílice, solución etanólica 0,2 N de hidróxido potásico, benceno, acetona hexano, éter etílico, cloroformo, solución al 5% de colesterol o fitosteroides en cloroformo como solución patrón para cromatografía en capa fina, solución etanólica 0,2% de 2,7-diclorofluoresceína, piridina anhidra, hexametildiclorosilano, trimetildiclorosilano.

#### Método:

##### *Preparación del insaponificable.*

En un matraz aforado de 250 mL se pesaron aproximadamente 5 g de muestra a la que se le añadieron 500  $\mu$ L de la solución de  $\alpha$ -colestanol al 0,2% en el caso del aceite de

oliva y 1500  $\mu\text{L}$  para los otros aceites. Se evaporó en corriente de nitrógeno hasta sequedad y, en el mismo matraz, se pesaron con precisión 5 g de muestra seca y filtrada, a la que se añadieron 50 mL de solución etanólica 2 N de hidróxido potásico. Se adaptó el refrigerante de reflujo calentando en baño María con ligera ebullición, agitando enérgica e ininterrumpidamente hasta que se produjo la saponificación. Después de otros 20 minutos de calentamiento se añadieron 50 mL de agua destilada por la parte superior del refrigerante, enfriando el matraz a 30 °C aproximadamente.

El contenido del matraz se transvasó a una ampolla de decantación de 500 mL mediante varios lavados con un total aproximado de 50 mL de agua destilada. Se agregaron 80 mL aproximadamente de éter etílico, agitando enérgicamente durante unos 30 segundos y dejando reposar hasta la separación de las fases. La fase acuosa se extrajo dos veces por el mismo procedimiento, utilizando cada vez de 60 a 70 mL de éter etílico.

Se reunieron las fracciones etéreas en una misma ampolla de decantación y se lavaron con agua destilada (50 mL cada vez) hasta reacción neutra. Una vez eliminado el agua de lavado, se deshidrató con sulfato sódico anhidro y se filtró sobre sulfato sódico anhidro a un matraz de 250 mL previamente pesado, lavando el embudo y el filtro con pequeñas cantidades de éter etílico.

Se destiló el éter hasta que quedaron unos pocos mL, desecando posteriormente a sequedad en corriente de nitrógeno a 60 °C. Después de enfriar en un desecador se pesó el insaponificable.

#### *Separación de la fracción de esteroides.*

Se realizó mediante cromatografía en capa fina. Dicha técnica separa en un soporte los componentes de una mezcla eluidos por la fase móvil en función de su masa molecular y su polaridad. En nuestro caso se aplicó para la obtención de la fracción de esteroides.

#### Procedimiento operativo.

- Soporte y fase estacionaria: placas de vidrio de 20 x 20 cm recubiertas de gel de sílice, sin indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor y tratadas con solución etanólica 0,2 N de hidróxido potásico.

- Fase móvil: mezcla de benceno-acetona 95:5 (v/v) o hexano-éter etílico 65:35 (v/v) situada en la cubeta de desarrollo hasta una altura de 1 cm y en equilibrio líquido-vapor.
  - Solución patrón: colesterol o fitosteroles, solución al 5% en cloroformo.
  - Solución reveladora: 2,7-diclorofluoresceína.
  - Lámpara ultravioleta con  $\lambda$  de 366 o 254 nm.
- Condiciones de trabajo:
- Preparación de las placas básicas: las placas se sumergen durante 10 segundos en una solución 0,2 N de hidróxido potásico y se secaron en campana durante 2 horas y finalmente en estufa a 100 °C durante 1 hora. Se conservaron en un desecador de cloruro de calcio hasta el momento del uso.
  - Muestra: Se aplicaron con una microjeringa de 100  $\mu$ L 0,3 mL de la solución de insaponificable en cloroformo al 5% aproximadamente.
  - Patrones: a la altura de la línea de aplicación se depositan, en un extremo de la placa, de 2 a 3  $\mu$ L de la solución de referencia de esteroides para la posterior identificación de la banda de éstos una vez efectuado el desarrollo.
  - Temperatura de trabajo: entre 15 y 20 °C.
  - Elución hasta que el disolvente se sitúe a 1 cm aproximadamente del borde superior de la placa.
  - Evaporación del disolvente en una corriente de nitrógeno.

Una vez revelada e identificada la banda de esteroides, se rascó con espátula el gel de sílice contenido en el área delimitada y se añadieron 10 mL de cloroformo caliente, se filtró en vacío recogiendo el filtrado en el matraz cónico acoplado al embudo filtrante, el cual se lavó tres veces con unos 10 mL de éter etílico cada vez, recogiendo el filtrado en el mismo matraz cónico acoplado al embudo. Posteriormente se evaporó hasta un volumen de 4 a 5 mL, transvasándolos a un tubo de ensayo de 10 mL previamente pesado donde se evaporó hasta sequedad mediante calentamiento suave en corriente ligera de nitrógeno, recogéndose con algunas gotas de acetona para volver a evaporar hasta sequedad introduciéndole en una estufa a 105 °C durante unos 10 minutos. Se dejó enfriar en el desecador y se pesó.

*Preparación de los trimetilsililéteres.*

Al residuo, formado por la fracción de esteroides, se le añadió el reactivo de silanización formado por una mezcla de piridina-hexametildisilazano-trimetilclorosilano 9:3:1 (v/v/v), a razón de 50  $\mu$ L por miligramo de esteroides, evitando toda absorción de humedad.

Se tapó y agitó cuidadosamente hasta total disolución de los esteroides, dejándolo reposar un cuarto de hora, como mínimo, a temperatura ambiente y centrifugándolo durante algunos minutos. La solución límpida se empleó para el análisis mediante cromatografía de gases (solución de TMSE).

*Cromatografía de gases.*

En el apartado 3.4.4.1. ya se ha definido la técnica cromatografía de gases como técnica de separación.

Procedimiento operativo.**- Equipo de cromatografía:**

- Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (Hewlett-Packard 5890 Series II) (Palo Alto, California).
- Sistema de inyección automático (7673 Hewlett-Packard).
- Integrador de Áreas (3396 Hewlett-Packard Series II) (Palo Alto, California)
- Unidad controladora (7673 Hewlett-Packard).
- Columna capilar SAC-5 (Supelco, Barcelona), de 30 m de longitud y de 0,25 mm de diámetro interno, con un espesor de 0,25  $\mu$ m.
- Gas portador: helio de calidad para cromatografía de gases.
- Gases auxiliares:
  - hidrógeno de calidad para cromatografía de gases.
  - aire de calidad para cromatografía de gases.
- Patrón interno:  $\alpha$ -colestanol, disolución al 0,2% (m/V) en cloroformo.

- Condiciones de trabajo:

- Temperatura de la columna: 265 °C
- Temperatura del inyector: 280 °C
- Temperatura del detector: 300 °C
- Velocidad lineal del gas portador: helio 20 cm/s
- Relación de “split” de 1/100
- Cantidad de sustancia inyectada: 1 µL de solución de TMSE.

Para la identificación de los diferentes picos se utilizaron los tiempos de retención y la comparación con mezclas de TMSE de los esteroides señalados por el Diario Oficial de las Comunidades Europeas N° L248 en el cuadro 1, anexo 5, analizados en las mismas condiciones.

Se calcularon las áreas de los picos del α-colesterol y de los diferentes esteroides, considerando para ellos el mismo factor de respuesta.

Expresión de los resultados: Se registra el contenido de cada uno de los esteroides en mg/100g de materia grasa y, como esteroides totales, su suma. La cantidad particular de cada esteroide se calculó mediante la fórmula:

$$\text{Esterol} = 100 \times \left( \frac{\text{Área del pico del Esteroide} \times \text{mg de } \alpha\text{-colesterol añadido}}{\text{Suma de áreas de los picos} \times \text{g de muestra}} \right)$$

El porcentaje de cada uno de los esteroides simples es la razón entre el área del pico correspondiente y la suma de las áreas de los picos de los esteroides:

$$\% \text{ Esteroide} = 100 \times \left( \frac{\text{Área del pico del Esteroide}}{\text{Suma de áreas de los picos}} \right)$$

#### 3.4.4.2.3. Determinación de tocoferoles

Los tocoferoles se determinaron por Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en fase inversa, con detector de fluorescencia según el método de Hess y col. (1991) de separación y cuantificación.

El método se fundamenta en transferir a una solución polar de acetonitrilo una alícuota de grasa disuelta en etanol/dioxano. Esta muestra se inyecta en un cromatógrafo HPLC con columna C18 y elución con acetonitrilo/tetrahidrofurano/metanol/acetato de amonio. El sistema de detección es un fluorímetro programado para realizar barridos de  $\lambda$ .

Los límites de detección o la sensibilidad para los tocoferoles fueron 0,05 mg/kg.

Se tomaron 5  $\mu$ L de aceite y se le añadieron 100  $\mu$ L de etanol:dioxano (1:1), agitándolo durante 10 minutos con un mezclador de tubos Eppendorf. A continuación se añadieron 150  $\mu$ L de acetonitrilo y se volvió a agitar. Este extracto estaba listo para su inyección en el cromatógrafo HPLC.

El equipo de HPLC: estaba integrado por los siguientes módulos:

- Bomba monopistón: mod. T 414, Kontron, Zürich, Switzerland
- Inyector automático: mod. 360, Kontron
- Horno de columnas: mod. 460, Kontron
- Detector de fluorescencia programable: mod. LS 40, Perkin-Elmer, Norwalk, Usa.
- Integrador: sistema de integración Multichrom, VG Laboratory System, Altrincham, Cheshire, England.

Reactivos:  $\alpha$ -tocoferol (Hoffmann-La Roche); etanol (Lichrosolv); n-hexano para análisis y benceno para análisis (Merck); 1,4-dioxano, diclorometano, tetrahidrofurano, metanol, acetato de amonio (todos para análisis) y 2,6-diter-butil-p-cresol (Fluka); acetonitrilo (HPLC grade, Rathburn).

Condiciones:

- Columna de acero inoxidable 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.
- Fase estacionaria: *Ultrasphere* ODS de 5 $\mu$ m (*Beckman* nº 235329, San Ramon, USA).
- Fase móvil: Acetonitrilo/tetrahidrofurano/metanol/acetato de amonio al 1% (684:220:68:28).
- Temperatura de la columna: 28 °C.
- Flujo: 1,5 mL/minuto.



- Presión: aproximadamente 50 bar (aproximadamente 5000 KPa).
- Volumen inyectado: 100  $\mu\text{L}$ .
- Programación del detector de fluorescencia (excitación/emisión):
  - de 0 a 240 segundos: 330/470 nm
  - de 241 a 600 segundos: 298/328 nm
  - de 600 a 1200 segundos: 349/480 nm
- Detección: medida de fluorescencia:
  - Tocoferoles:  $\lambda_{\text{exc}} = 298 \text{ nm}$  y  $\lambda_{\text{em}} = 328 \text{ nm}$
- Tiempos de retención:
  - $\alpha$ -tocoferol: 7,2 minutos.
- Tiempo de análisis:
  - 20 minutos.

#### 3.4.4.3. Separación y cuantificación de lipoproteínas.

**Principio:** Se realizó una ultracentrifugación del suero para separar las distintas fracciones lipoproteicas. Éstas se obtuvieron mediante gradientes discontinuos de densidad siguiendo el método de Terpstra y col. (1981). En cada ultracentrifugación se utilizó un tubo control conteniendo un *pool* de sueros preteñido con Negro Sudán, según la metodología de Terpstra y col. (1981), para garantizar la repetibilidad de la técnica y la posición de las fracciones lipoproteicas en los tubos.

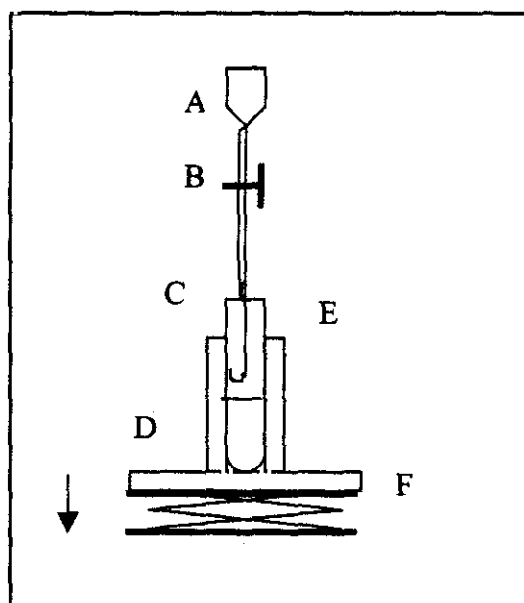
**Procedimiento:** En un tubo de centrifuga de nitrato de celulosa (SW 41, *Beckman Inc.*, Palo Alto, California), en el que se habían dibujado marcas de calibración cada mL, se añadió una mezcla de bromuro potásico (0,77 g) y sacarosa (0,05 g) y 2 mL de suero. A continuación se fue adicionando secuencialmente las siguientes soluciones:

- a) 2 mL de una mezcla de cloruro sódico y bromuro potásico ( $11,42 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$  de NaCl y  $315,54 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$  de KBr) de densidad 1,225 g/mL
- b) 4 mL una mezcla de cloruro sódico y bromuro potásico ( $11,42 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$  de NaCl y  $133,48 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$  de KBr) de densidad 1,10 g/mL
- c) 4 mL de agua destilada

Todas las soluciones contenían  $10^{-4}$  g/mL EDTA disódico.

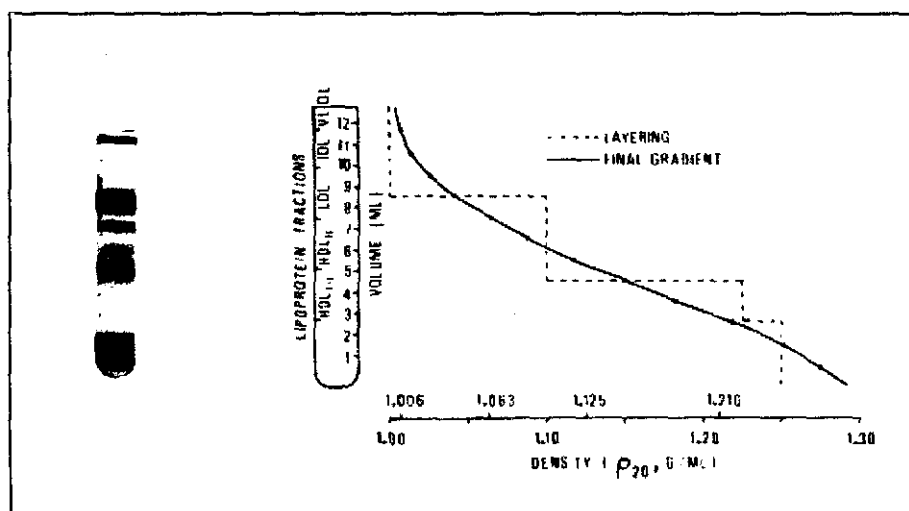
La adición de las soluciones se realizó en un aparato diseñado especialmente para el procedimiento técnico (Figura 30). Con una pipeta capilar de extremo curvo las soluciones se van depositando lentamente cada una justo encima de la anterior, con ayuda de un sistema móvil para ir bajando el tubo de centrifuga, garantizando así la generación de gradientes de densidad.

Los tubos fueron centrifugados en una ultracentrífuga L8-70M con rotor SW41 (Beckman Inc. Palo Alto California) durante 22 horas (incluyendo el tiempo de aceleración y 1 hora de desaceleración) a 40.000 r.p.m. y una temperatura de 8 °C. Durante la centrifugación, el cloruro sódico y el bromuro potásico de las diferentes soluciones difunden en función del gradiente de concentración hacia las capas vecinas, formándose un gradiente continuo. En la Figura 31 se muestra el gradiente final obtenido por Terpstra y col. (1981). Dicho gradiente se obtuvo midiendo con un densitómetro digital (Anton Para K.G., Graz A-8054, Austria) la densidad de fracciones de 1 mL de capacidad obtenidas secuencialmente mediante la utilización de tubos calibrados y un cortatubos (Beckman Inc., Palo Alto California) (Figura 31).



**Figura 30.** Diagrama del aparato usado para la separación de las soluciones salinas. A: reservorio, B: llave, C: capilar, D: tubo de centrifuga SW 41; E: portatubo; F: superficie con sistema móvil tipo muelle. Tomado de Terpstra y col. (1981).

Los límites de densidades en las bandas y las diferentes lipoproteínas pueden ser estimadas por su densidad (VLDL,  $\rho_{20} < 1,0063$  g/mL; IDL,  $1,0063 < \rho_{20} < 1,019$  g/mL; LDL,  $1,019 < \rho_{20} < 1,05$  g/mL; Lp(a),  $1,05 < \rho_{20} < 1,08$  g/mL; HDL,  $1,08 < \rho_{20} < 1,21$  g/mL) (Figura 31).



**Figura 31.** Curva de gradiente de densidad tras 22 horas de ultracentrifugación en una ultracentrífuga con rotor SW 41. Tomado de Terpstra y col. (1981).

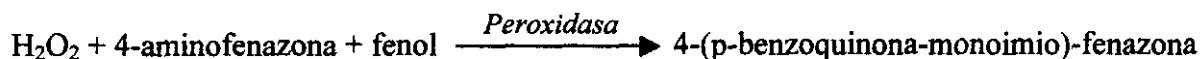
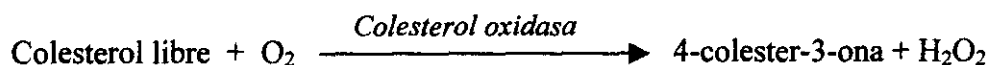
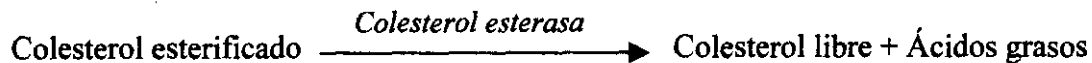
#### 3.4.4.4. Determinación de colesterol total

Este parámetro, al igual que otros, se determinó tanto en suero como en cada una de las fracciones correspondientes a las lipoproteínas HDL, LDL, VLDL y Lp(a) utilizando el método enzimático-colorimétrico de punto final, basado en la reacción entre el colesterol del suero y el enzima colesterol-oxidasa para dar lugar a colesterol-4-en-3-ona y agua oxigenada. El agua oxigenada reacciona posteriormente con la aminofenazona en presencia del enzima peroxidasa para dar lugar a un complejo coloreado que absorbe a una  $\lambda_{\max}$  de 500 nm (reacción de Trinder, 1969) (Allain y col., 1974).

Se utilizó el kit comercializado por Technicon para ser utilizado en el autoanalizador Technicon RA-500 (Tarrytown, New York), y se determinó por duplicado la concentración de colesterol total en cada una de las muestras.

Todas las muestras de suero, estándar, control y blanco fueron tratadas de igual manera. Se utilizaron gráficos de control de calidad de Levy-Jennings para comprobar de modo continuo que la precisión y la exactitud del método se encontraban dentro de los límites

de confianza previamente establecidos. El coeficiente de variación (CV) interdía fue de 2,3%. Las muestras control utilizadas fueron precilip y precipath de Boehringer.



Este método está libre de interferencias por hemoglobina hasta concentraciones de 10 g/dL y por bilirrubina hasta 20 mg/dL. Los resultados se expresaron en mg/dL y en mmol/L.

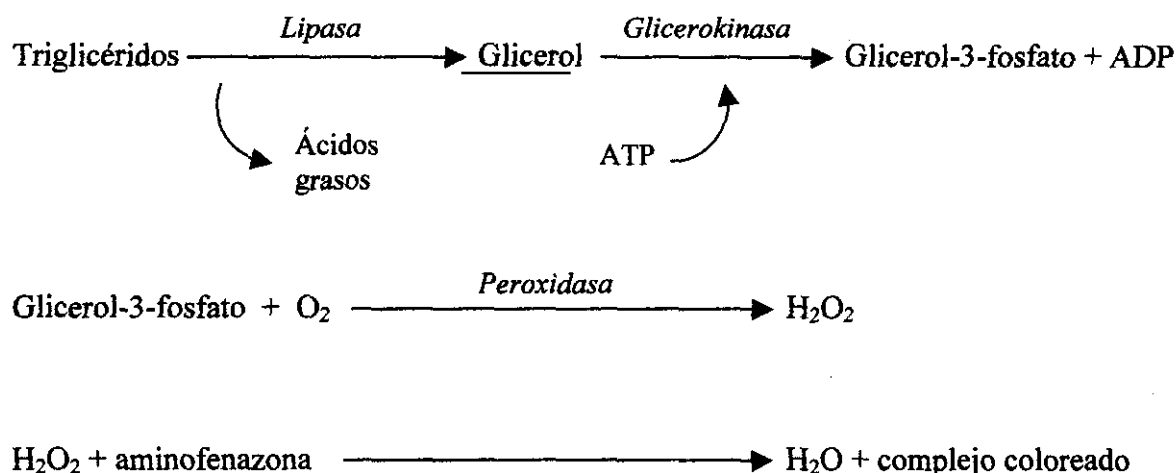
#### 3.4.4.5. Determinación de triglicéridos.

Se determinaron tanto en suero como en cada una de las lipoproteínas HDL, LDL, VLDL y Lp(a), siguiendo una metodología semejante.

El método empleado está comercializado por Technicon y se trata de un método enzimático-colorimétrico de punto final, basado en que el glicerol obtenido por hidrólisis de los triglicéridos séricos con lipasa se fosforila en presencia de ATP mediante glicerol-quinasa para dar lugar a glicerol-3-fosfato. Éste último se oxida a agua oxigenada que se cuantifica mediante la reacción de Trinder (1969) utilizando como cromógeno la 4-amino-fenazona

Las muestras, el estándar, el control y el blanco se incubaron con dichos reactivos durante 10 minutos a 20-25 °C y se leyeron las absorbancias a 500 nm utilizando la solución estándar antes mencionada. Como muestras control se utilizaron Precilip y Precipath comercializados por Boehringer. Se realizaron gráficos de Levy-Jennings par el control de calidad de la precisión y exactitud del método. El coeficiente de variación interdía fue de 1,9%.

Los resultados se expresan en mg/dL.

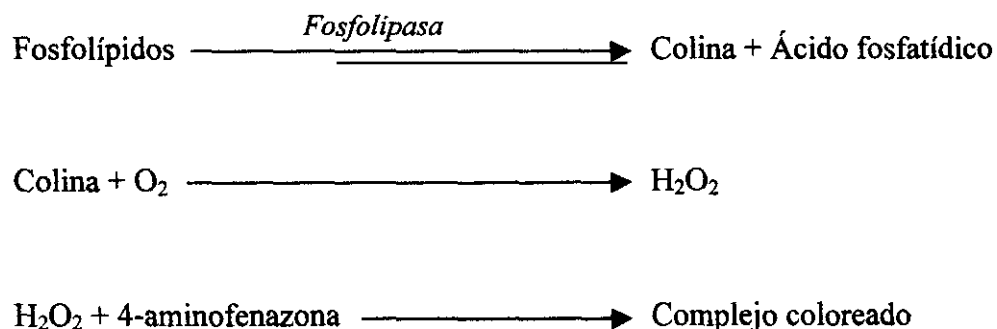


#### 3.4.4.6. Determinación de fosfolípidos.

Este parámetro se determinó tanto en suero como en cada una de las lipoproteínas HDL, LDL, VLDL y Lp(a), siguiendo un método enzimático-colorimétrico de punto final comercializado por Technicon y basado en hidrolizar los fosfolípidos mediante el enzima fosfolipasa con liberación de colina y ácido fosfatídico. La colina se determina mediante de reacción de Trinder (1969), en la que el cromógeno es la 4-aminofenazona, obteniéndose un complejo coloreado que se cuantifica a la  $\lambda_{\text{máx}}$  de 500 nm. Las muestras blanco, estándar y control se trataron del mismo modo que los problemas, utilizándose un autoanalizador Technicon RA-500.

Para el control de calidad se utilizaron gráficas de Levy-Jennings. Los controles usados para ello fueron Precilip y Precipath.

Las muestras, la solución estándar, y el blanco se incubaron con las soluciones reactivas durante 10 minutos a 37 °C y se leyeron frente al blanco. Los resultados se expresaron en mg/dL.



**3.4.4.7. Determinación de proteínas en cada fracción lipoproteica.**

La determinación de la concentración de proteínas totales en las fracciones de LDL, HDL, VLDL y Lp(a) separadas por ultracentrifugación se realizó por el método Lowry (Lowry y col., 1951).

Este método se basa en la formación de un producto coloreado como consecuencia de la reacción de reducción de los iones fosfomolibdato y fosfotungstato presentes en el reactivo de Folin-Ciocalteu por los restos de tirosina y triptófano proteicos.

Los reactivos empleados en esta ocasión son:

- A: carbonato sódico al 2% en hidróxido sódico 0,1 N.
- B: sulfato cúprico al 0,5% en tartrato sódico-potásico.
- C: mezcla de 50 mL del primero con 1 mL del segundo.
- D: reactivo de Folin-Ciocalteu 2 N.
- Patrón de albúmina bovina de concentración 1 mg/mL.

Para cuantificar las proteínas totales se realizaron distintas diluciones del patrón de albúmina mezclando cada una de ellas con solución C y D, y manteniéndolas media hora en la oscuridad. La medida de las Absorbancias a 760 nm nos permitió construir la curva de calibrado.

Las muestras problemas recibieron el mismo tratamiento además de ser sometidas a agitación con éter etílico y posterior eliminación del sobrenadante. Finalmente se procedió a la lectura de sus Absorbancias a la misma longitud de onda. La concentración se expresó en mg/dL de proteínas.

**3.4.4.8. Determinación de Apolipoproteína AI.**

La determinación cuantitativa de apolipoproteína AI procedente del suero y de la fracción HDL, obtenida por ultracentrifugación, se llevó a cabo siguiendo un método inmunturbidimétrico y realizando las lecturas de turbidancia a una longitud de onda de 340 nm.

Las apolipoproteínas contenidas en el suero humano, por medio de una reacción inmunoquímica, forman inmunocomplejos con anticuerpos específicos, los cuales pueden

dispersar un rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la apolipoproteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un patrón de concentración conocida.

El ensayo se desarrollo siguiendo el procedimiento del kit comercializado por el Laboratorio Technicon (Terrytown, New York).

Se añadió antisuero anti-Apo AI tanto a los calibradores como a los controles, patrones y muestras problemas. Dicho antisuero había sido diluido previamente en una solución tampón ya preparada y comercializada. Los complejos insolubles antígeno-anticuerpo empiezan a formarse rápidamente y la turbidancia de la solución resultante se mide después de 5 minutos de incubación.

Este ensayo se realizó en el autoanalizador Technicon (Terrytown, New York) programado y calibrado convenientemente, obteniéndose directamente las concentraciones de Apo AI en mg/dL.

El intervalo de referencia utilizado fue de 86-164 mg/dL.

#### **3.4.4.9. Determinación de Apolipoproteína B.**

Esta determinación se realizó en suero y en las fracciones LDL, VLDL y Lp(a).

Para la valoración de apolipoproteína B se siguió el método inmunturbidimétrico anteriormente descrito y comercializado igualmente por Technicon. Los controles, calibradores, patrones y muestras problemas fueron tratados con antisuero anti-Apo B diluido en la solución tampón adecuada.

Igualmente se empleó el autoanalizador Technicon (Terrytown, New York ), utilizando una longitud de onda de 340 nm para la lectura de las turbidancias y expresándose las concentraciones en mg/dL.

El intervalo de valores normales para la Apo B, empleando este método resultó ser de 51-116 mg/dL.

#### **3.4.4.10. Determinación de Apolipoproteína AII.**

La determinación de apolipoproteína AII en suero y en la fracción de HDL se realizó mediante inmunoelectroforesis "cohete" (rocket) siguiendo una modificación del método de Laurell (1977) utilizando una cubeta de inmunoelectroforesis Multiphor de LKB (Sweden).

Se escogió el tampón Sveindsen 0,12 M cuya composición fue la siguiente:

- Ácido dietil barbitúrico: 22,4 g
- Azida de sodio: 1 g
- Tris: 44,3 g
- Lactato de calcio: 0,53 g
- Agua: c.s.p. 1 L

En el momento de su utilización se diluyó esta solución en una relación 1:4.

Para preparar el gel se añadieron a 100 mL de tampón Svendsen 1 g de agar y 5 g de dextrano T.10, llevándolo a ebullición durante 10 minutos. Posteriormente se adicionó el antisuero anti-Apo AII de título 0,36 g/L en la proporción 70  $\mu$ L:12 mL. Se emplearon placas de cristal de 80  $\times$  80 mm, en las cuales se obtuvieron geles de 5 mm de espesor. Una vez gelificados, se procedió a formar los pocillos con un capilar conectado a una bomba de vacío. Las muestras de suero fueron diluidas con la solución tampón en proporción 5  $\mu$ L:500  $\mu$ L, aplicándose la cantidad de 5  $\mu$ L en dichos pocillos.

Los geles se colocaron sobre la placa refrigerada en la cubeta Multiphor, situando la solución tampón en los compartimentos electródicos. El contacto entre el gel y la solución tampón se realizó mediante tiras de papel de filtro. El conjunto se cerró con una placa anticondensadora y se hizo pasar la corriente de 200 V durante 18 horas.

Posteriormente se lavaron las placas con solución salina fisiológica para eliminar el exceso de antisuero y se procedió al secado en estufa a 37 °C.

Una vez secas, se tiñeron con una solución colorante constituida por azul brillante de Coomassie al 0,25% en metanol, ácido acético glacial y agua destilada en proporción 50:10:40.

El exceso de colorante se eliminó con solución decolorante formada por metanol, ácido acético glacial y agua destilada en proporción 1:1:10. Los lavados se repitieron varias veces hasta total decoloración.

Se midieron las alturas de los picos en milímetros, y las concentraciones se determinaron extrapolando el tamaño de los picos a los de una curva realizada con diluciones de un suero estándar de la casa Behring de concentración conocidas con la solución tampón.



#### 3.4.4.11. *Determinación de lípidos totales*

Es el resultado de la suma aritmética del colesterol total (CT), los triglicéridos (TG) y los fosfolípidos (FL). Los resultados se expresan en las mismas unidades que sus sumandos, mg/dL:

$$LT = \sum (CT + TG + FL)$$

#### 3.4.4.12. *Determinación de la masa total de las lipoproteínas.*

Es el resultado de la suma aritmética de los lípidos totales (LT) y las proteínas totales (PT). Los resultados se expresan en las mismas unidades que sus sumandos, mg/dL:

$$Masa\ total = \sum (LT + PT)$$

#### 3.4.4.13. *Determinación de peroxidación lipídica en suero y en LDL*

La peroxidación se determinó en suero, y en la fracción de LDL previamente dializada frente a agua destilada para eliminar el bromuro potásico utilizado en la ultracentrifugación.

Principio: Entre los productos obtenidos en la degradación de los peróxidos lipídicos se encuentra el malonildialdehído (MDA). El método de cuantificación utilizado en este trabajo fue el de las sustancias reactivas con tiobarbitúrico (TBARS), entre las que se encuentra el MDA, y se basa en la medida de la absorbancia a 532 nm del complejo formado por estas sustancias y el ácido tiobarbitúrico. El ensayo espectrofotométrico incluye un pretratamiento de las muestras desproteinizadas de suero con ácido tricloroacético para precipitar las proteínas, calentamiento de las muestras con ácido tiobarbitúrico a pH ácido y riguroso control del tiempo de calentamiento para obtener resultados reproducibles (Yagui, 1993).

Procedimiento: Se mezclan 0,02 mL de suero con 4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N/12 y se incuba a temperatura ambiente durante 5 minutos. A continuación se centrifuga la mezcla a 3000 rpm durante 10 minutos. El precipitado obtenido se resuspende en 4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se centrifuga

de nuevo a 3.000 rpm durante 10 minutos y se obtiene un segundo precipitado que resuspenderemos en 4 mL de H<sub>2</sub>O destilada. A continuación se añade 1 mL de una mezcla de ácido tiobarbitúrico 0,67%:ácido acético glacial.(1:1), se calienta 60 minutos a 95°C y se deja enfriar. Después se añaden 5 mL de n-butanol, se agita y se centrifuga 25 minutos a 3000 rpm. Tras la separación de la fase de n-butanol, la fluorescencia obtenida se mide en un espectrofluorímetro (PERKIN-ELMER MPF-3, England) equipado con una fuente de alimentación adecuada para una lámpara de Xe de 150 vatios ( $\lambda_{\text{excitación}}$ : 515 nm;  $\lambda_{\text{emisión}}$ : 553 nm).

**Cálculo:** El nivel de lípidos peroxidados en términos de MDA viene dado por la siguiente ecuación:

$$\text{Peróxidos lipídicos} = 0,5 \times f/F \times 1,0/0,02 = f/f \times 25 \text{ nmol/mL}$$

*F*: intensidad de fluorescencia del estándar (tetrametoxipropano 0,5nmol/mL).

*f*: intensidad de fluorescencia de la muestra.

Previo a la medida se realizó una curva patrón utilizando tetrametoxipropano (17464-5 Aldrich, USA) en concentraciones de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 nmol/mL. Los resultados se expresaron en nmol/mL.

#### 3.4.4.14. *Determinación de vitaminas.*

Las muestras de sangre anticoaguladas con heparina se centrifugaron a 2000 xg a 4 °C durante 10 minutos para obtener las muestras de plasma. Éstas se mantuvieron a -80 °C en el Instituto del Frío (Madrid), enviándose a los laboratorios Hoffmann La Roche de Basilea (Suiza) por correo aéreo urgente, manteniendo los tubos en hielo seco.

Las determinaciones se realizaron en las instalaciones de los Laboratorios Hoffmann La Roche bajo la supervisión del Dr. Muggli.

##### 3.4.4.14.1. Determinación de retinol, $\alpha$ -tocoferol y $\gamma$ -tocoferol.

Se determinaron estos parámetros mediante HPLC en fase inversa con detector de fluorescencia mediante el método de Hess y col. (1991). Dicho método se fundamenta en desproteinizar la muestra de plasma, extraerla con n-hexano, transferir a una solución polar por evaporación y redissolver en etanol/dioxano con adición de unas gotas de acetonitrilo. Esta muestra se inyectó en un cromatógrafo HPLC con columna C18 y elución con acetonitrilo/tetrahidrofurano/metanol/acetato de amonio, tal como se ha descrito en el apartado 3.4.4.2.3. para la determinación de  $\alpha$ -tocoferol en los aceites. El sistema de detección es un fluorímetro programado para realizar barridos de  $\lambda$ .

Los límites de detección o la sensibilidad para los tocoferoles fueron 0,05 mg/L y para el retinol de 20  $\mu$ g/L.

Los C.V. obtenidos fueron: retinol 2% (n=14),  $\alpha$ -tocoferol 2,3% (n=14),  $\gamma$ -tocoferol 2,4% (n=14).

Los resultados de la determinación fueron calculados en mg/L para los tocoferoles y en  $\mu$ g/L para el retinol.

Tratamiento preanalítico de la muestra: Se descongelan 250  $\mu$ L de plasma y se diluyen con 250  $\mu$ L de agua bidestilada. A esta alícuota, en un tubo de centrifuga, se le añaden 500  $\mu$ L de etanol, se agita durante 10 segundos en un Vortex con el fin de desproteinizarla. A continuación se realiza una extracción para lo que se adicionan, con una pipeta automática (Hamilton Microlab M, Bonaduz, Switzerland), 1000  $\mu$ L de n-hexano y se cierran los tubos con un tapón de polietileno. Tras agitarse los tubos mecánicamente durante 10 minutos, son centrifugados a una fuerza equivalente a 2.000 g. Seguidamente se toman 400  $\mu$ L del sobrenadante y en un tubo Eppendorf se introducen en un rotavapor (*Speed-Vac-Concentrator, Savant Instruments, Farmingdale USA*), y se evaporan totalmente a temperatura ambiente bajo presión reducida. El extracto seco se recoge con 100  $\mu$ L de etanol:dioxano (1:1), agitándolo durante 10 minutos con un mezclador de tubos Eppendorf. A continuación se añaden 150  $\mu$ L de acetonitrilo y se vuelve a agitar. Este extracto está listo para su inyección en el HPLC.

El equipo de HPLC: estaba integrada por los siguientes módulos:

- Bomba monopistón: mod. T 414, Kontron, Zürich, Switzerland

- Inyector automático: mod. 360, Kontron
- Horno de columnas: mod. 460, Kontron
- Detector de fluorescencia programable: mod. LS 40, Perkin-Elmer, Norwalk, Usa.
- Integrador: sistema de integración Multichrom, VG Laboratory System, Altrincham, Cheshire, England.

Reactivos: Retinol,  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol (Hoffmann-La Roche), Etanol (Lichrosolv); n-hexano para análisis y benceno para análisis (MERCK); 1,4-dioxano, diclorometano, tetrahidrofurano, metanol, acetato de amonio (todos para análisis) y 2,6-diterbutil-p-cresol (FLUKA); acetonitrilo para HPLC (RATHBURN).

Condiciones:

- Columna de acero inoxidable 250 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.
- Fase estacionaria: *Ultrasphere* ODS de 5  $\mu$ m (*Beckman* n° 235329, San Ramon, USA).
- Fase móvil: Acetonitrilo/tetrahidrofurano/metanol/acetato de amonio al 1% (684:220:68:28).
- Temperatura de la columna: 28 °C.
- Flujo: 1,5 mL/minuto.
- Presión: aproximadamente 50 bar (aproximadamente 5.000 KPa).
- Volumen inyectado: 100  $\mu$ L.
- Separación isocrática.
- Programación del detector de fluorescencia (excitación/emisión):
  - de 0 a 240 segundos: 330/470 nm
  - de 241 a 600 segundos: 298/328 nm
  - de 600 a 1200 segundos: 349/480 nm
- Detección: medida de fluorescencia:
  - Retinol:  $\lambda_{exc} = 330$  nm y  $\lambda_{em} = 470$  nm
  - Tocoferoles:  $\lambda_{exc} = 298$  nm y  $\lambda_{em} = 328$  nm
- Tiempos de retención:

Retinol: 2,7 minutos.

$\alpha$ -tocoferol: 7,2 minutos.

$\gamma$ -tocoferol: 6,4 minutos.

- Tiempo de análisis: 20 minutos.

#### 3.4.4.14.2. Determinación de $\alpha$ -carotenos, $\beta$ -carotenos, criptoxantina y licopenos.

Para la separación y cuantificación  $\alpha$ -carotenos,  $\beta$ -carotenos, criptoxantina y licopenos se utilizó también el método de HPLC de Hess y col (1991) pero con detector espectrofotométrico.

Los límites de detección fueron 10  $\mu\text{g/L}$  para los carotenos y criptoxantina y 5  $\mu\text{g/L}$  para los licopenos

Los C.V. obtenidos fueron:  $\alpha$ -carotenos 9,4% (n=11),  $\beta$ -carotenos 4,3% (n=11),  $\beta$ -criptoxantina 4,2% (n=13), licopenos 2,1% (n=14).

Los resultados de la determinación fueron calculados en  $\mu\text{g/L}$ .

Procedimiento de tratamiento preanalítico de la muestra: Se siguió el mismo proceso que para el retinol y los tocoferoles.

El equipo de HPLC: Integrado por los módulos anteriormente citados a diferencia del detector:

- Detector de UV/VIS de longitud de onda variable: mod. 204 (Stagroma LCD 501, Linear Instruments, Reno, USA).

Reactivos:  $\alpha$ -carotenos (Sigma);  $\beta$ -carotenos, criptoxantina, licopenos (Hoffmann-La Roche), además del resto de los reactivos mencionados en el apartado anterior.

Condiciones: Semejante al expuesto en el apartado anterior con una única diferencia en el sistema de detección que se realizó por medida de absorbancias.

- Programación del detector de UV/VIS:
  - de 0 a 470 segundos: 450 nm
  - de 471 a 780 segundos: 472 nm

de 781 a 1230 segundos: 450 nm

- Detección medida de absorbancia:

$\alpha$ -carotenos,  $\beta$ -carotenos y criptoxantina:  $\lambda_{\max} = 450$  nm.

licopenos:  $\lambda_{\max} = 472$  nm.

- Tiempos de retención correspondientes a cada compuesto fueron:

$\alpha$ -carotenos: 14,9 minutos.

(E)  $\beta$ -carotenos: 15,8 minutos.

(Z)  $\beta$ -carotenos: 16,5 minutos.

criptoxantina: 6,0 minutos.

licopenos: 8,9 minutos.

- Soluciones estándar:

$\alpha$ -carotenos: 500  $\mu\text{g/L}$  de  $\alpha$ -carotenos en n-hexano

$\beta$ -carotenos: 500  $\mu\text{g/L}$  de  $\beta$ -carotenos en n-hexano

licopenos: 500  $\mu\text{g/L}$  de licopenos en n-hexano con BHT (35 mg/100 mL)

#### 3.4.4.14.3. Determinación de ácido ascórbico.

Se utilizó el método KECK (Deutsch y Weeks, 1965) descrito por Brubacher y Vuilleumier, (1974) adaptado para su utilización en autoanalizador de flujo continuo. Se basa en la oxidación del ácido ascórbico a la forma dehidro, posterior condensación con orto-fenildiamina, obtención de quinoxalina y medida de la fluorescencia producida.

Los límites de linealidad están comprendidos entre 1 mg/L y 30 mg/L. Los límites de detección fueron de 1 mg/L para el plasma.

Equipo: Centrifuga de laboratorio, agitador, cubetas de fluorimetría, pipetas Eppendorf-Marburg de varios volúmenes, degasificador, Autoanalizador Technicon II integrado por: un muestrador Sampler IV, una bomba Pumpe III, unidad analítica, fluoronefelómetro (filtro primario 365 nm/filtro secundario 435 nm) con registrador y grabadora.

**Reactivos:** Ácido metafosfórico, 50 g/L; solución de acetato sódico 25%, 250 g/L; solución de borato sódico 10%; solución de o-fenilendiamina 300 mg/L; ácido ascórbico cristalino; solución de iodo 0,001 mol/L, solución de tiosulfato sódico 0,01 mol/L, sulfato de quinina 0,1 µg/mL en ácido sulfúrico 0,05 mol/L.

**Tratamiento preanalítico de la muestra:** Las muestras de plasma requieren estabilización previa con ácido metafosfórico. Se centrifugarán a continuación, recogiendo el sobrenadante.

**Calibración:** Para preparar una curva de calibración se procedió a disolver 20 mg de ácido ascórbico cristalino en 100 mL de metafosfórico. A partir de esta solución se prepararon soluciones estándares entre 0 y 200 µg/mL.

**Procedimiento:** Se mezclan en la cámara espiral del autoanalizador de flujo continuo la solución de iodo con un flujo 0,8 mL/min, aire a un flujo 0,8 mL/min y la muestra con un flujo de 0,42 mL/min. A continuación se añade la solución de tiosulfato sódico con una flujo de 0,42 mL/min.

En segundo lugar se lleva a cabo la reacción de condensación para dar el derivado fluorescente. Para ello se adiciona acetato de sodio con un flujo de 0,6 mL/min, pasando por la espiral de mezcla y la espiral de calentamiento a 37 °C. Después de unos 15 minutos se añaden la solución de o-fenilendiamina con un flujo de 1 mL/min, a través de la espiral de calentamiento a 37 °C y la espiral de mezcla. Tras 15 minutos de incubación, se eliminan las burbujas con un desgasificador y se procede a la lectura en el fluoronefelómetro.

Como blanco de reactivos se utilizó una solución de borato sódico al 10% y acetato de sodio al 25%.

#### 3.5. CONTROL DE CALIDAD.

Siguiendo las normas de Control de Calidad de la NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), las muestras se sometieron a control de calidad interno. Por ejemplo en el caso de los lípidos séricos se utilizaron dos gráficos Shewhart (Westgard y Groth, 1981) para el parámetro sometido a control: uno con valores normales (Precilip) y el otro usando un suero control con valores patológicos (Precipath), ambos sueros control son

comercializados por los laboratorios Boehringer. Como criterio de rechazo de resultados se usaron las multirreglas de Westgard. Los análisis realizados con el autoanalizador Technicon fueron también sometidos al control de calidad externo de *Wellcome Diagnostic Quality Assessment Programmes*. Los gráficos, remitidos periódicamente por dicho organismo nos informaron satisfactoriamente de nuestros resultados.

### **3.6. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.**

El tratamiento estadístico de los datos se llevó a cabo en el Departamento de Estadística del Centro Técnico de Informática CTI-CSIC, bajo el asesoramiento de Dña. Laura Barrios, jefe del citado Departamento.

Las diferencias ente los distintos parámetros a estudio en función del tipo de aceite utilizado en la dieta se evaluaron mediante el test de Student con muestras pareadas. Las comparaciones entre los grupos con colesterol normal y elevado se llevaron a cabo utilizando el test de Student con muestras no pareadas.





**ABRIR CAPÍTULO 4**

